

# Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina 3

Lais Daiene Cosmoski  
(Organizadora)



# Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina 3

Lais Daiene Cosmoski  
(Organizadora)



2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
D569	Difusão do conhecimento através das diferentes áreas da medicina 3 [recurso eletrônico] / Organizadora Lais Daiene Cosmoski. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Difusão do conhecimento através das diferentes áreas da medicina; v. 3)  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-882-3 DOI 10.22533/at.ed.823192312  1. Medicina – Pesquisa – Brasil. 2. Saúde - Brasil. 3. Diagnóstico. I. Cosmoski, Lais Daiene. II. Série.  CDD 610.9
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

Cada vez mais percebemos, que no mundo da ciência, principalmente da área da saúde, nenhuma profissão trabalha sozinha, é necessário que vários profissionais estão envolvidos e engajados em conjunto, prezando pela, prevenção, diagnóstico e tratamento de diversas patologias, visando sempre a qualidade de vida da população em geral.

A Coletânea Nacional “Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina” é um *e-book* composto por 4 volumes artigos científicos, que abordam relatos de caso, avaliações e pesquisas sobre doenças já conhecidas da sociedade, trata ainda de casos conforme a região demográfica, onde os locais de realização dos estudos estão localizados em nosso país, trata também do desenvolvimento de novas tecnologias para prevenção, diagnóstico e tratamento de algumas patologias.

Abordamos também o lado pessoal e psicológico dos envolvidos nos cuidados dos indivíduos, mostrando que além dos acometidos pelas doenças, aqueles que os cuidam também merecem atenção.

Os artigos elencados neste *e-book* contribuirão para esclarecer que ambas as profissões desempenham papel fundamental e conjunto para manutenção da saúde da população e caminham em paralelo para que a para que a ciência continue evoluindo para estas áreas de conhecimento.

Desejo a todos uma excelente leitura!

Lais Daiene Cosmoski

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
USO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO TECIDUAL EM ANIMAIS- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
Lívia Carolina de Souza Dantas	
Célio Fernando de Sousa Rodrigues	
Fabiano Timbo Barbosa	
Amanda Karine Barros Ferreira Rodrigues	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923121</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
A UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL E LACTANTE	
Erivan de Souza Oliveira	
Marcela Feitosa Matos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923122</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>21</b>
CajaDB: A DATABASE OF COMMON MARMOSETS ( <i>Callithrix jacchus</i> )	
Viviane Brito Nogueira	
Danilo Oliveira Imparato	
Sandro José de Souza	
Maria Bernardete Cordeiro de Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923123</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>33</b>
CAPACITAÇÃO EM GINÁSTICA LABORAL NA PREVENÇÃO DE DORT'S PARA AGENTES COMUNITÁRIO DE SAÚDE	
Daniel de Souza Reis	
Arthur Gontijo de Lacerda	
Caroline Domingos Pierazzo	
Danilo Pereira Lima Santos	
Fernanda Alves Correia	
Hanne Saad Carrijo Tannous	
Kenzo Holayama Alvarenga	
Karina Rezende Nascimento	
Leonardo Faria Ornella Torres	
Larissa Fonseca Tavares	
Matheus Alves de Castro	
Rafaela Fernandes Palhares	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923124</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>38</b>
ACCURACY OF ULTRASOUND FOR DETECTING LIVER METASTASIS XENOGRAPTS IN NUDE MICE	
Caroline Corrêa de Tullio Augusto Roque	
Eduardo Nóbrega Pereira Lima	
Rubens Chojniak	
Bruno de Tullio Augusto Roque Lima	
Tiago Goss dos Santos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923125</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 52**

ESTIMULAÇÃO DO CRESCIMENTO DE CÉLULAS NERVOSAS UTILIZANDO *Rosmarinus officinalis* (ALECRIM)

Eliza Wedja Santos de Sales  
Ducivânia da Silva Tenório  
Jamicelly Rayanna Gomes da Silva  
Maria Eduarda Silva Amorim  
Camilla Isabella Ferreira Silva  
Stéphanie Camilla Vasconcelos Tavares  
Nayane Monalys Silva de Lima  
Aline de Moura Borba  
Victória Júlya Alves de Albuquerque  
Joanne Cordeiro de Lima Couto  
Cynthia Gisele de Oliveira Coimbra  
Risonildo Pereira Cordeiro

**DOI 10.22533/at.ed.8231923126**

**CAPÍTULO 7 ..... 68**

EFFECTS OF INTRA-ABDOMINAL PRESSURE IN RAT LUNG TISSUE AFTER PNEUMOPERITONEUM

Julio Cezar Mendes Brandão  
Itamar Souza Oliveira Junior  
Luiz Fernando Dos Reis Falcao  
David Ferez  
Masashi Munechika Masashi  
Luciana Cristina Teixeira  
Vanessa Coelho Gaspar  
Carla Andria Dato

**DOI 10.22533/at.ed.8231923127**

**CAPÍTULO 8 ..... 83**

ESTUDO HISTOLÓGICO DA EXPRESSÃO DA AQUAPORINA 2 EM NERVO FACIAL DE RATOS

Luiza de Almeida Gondra Limeira  
José Ricardo Gurgel Testa  
Andrei Borin  
Luciene Covolan  
Felipe Costa Neiva  
Maria Regina Regis Silva

**DOI 10.22533/at.ed.8231923128**

**CAPÍTULO 9 ..... 111**

NOROVÍRUS MURINO: UM AGENTE PREVALENTE EM CAMUNDONGOS

Daniele Masselli Rodrigues Demolin  
Josélia Cristina de Oliveira Moreira  
Rovilson Gilioli  
Marcus Alexandre Finzi Corat

**DOI 10.22533/at.ed.8231923129**

**CAPÍTULO 10 ..... 140**

NUTRIÇÃO FUNCIONAL COMO ESTRATÉGIA NO TRATAMENTO DE DOENÇAS: USO DA BANANA VERDE

Fabíola Pansani Maniglia

**DOI 10.22533/at.ed.82319231210**

**CAPÍTULO 11 ..... 148**

DENGUE GRAVE: REVISÃO DO ESTADO DA ARTE FOCADA NA IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES PRECOSES DE GRAVIDADE

Bianca De Santis Gonçalves  
Marco Aurélio Pereira Horta  
Rita Maria Ribeiro Nogueira  
Ana Maria Bispo de Filippis

**DOI 10.22533/at.ed.82319231211**

**CAPÍTULO 12 ..... 161**

A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO ASPCERR COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLATE DE ORGÃO HEPÁTICO

Antonio Henrique Dianin  
Rodolfo dos Reis Tártaro  
Gracinda de Lourdes Jorge  
Aurea Maria Oliveira da Silva  
Elaine Cristina de Ataíde  
Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin

**DOI 10.22533/at.ed.82319231212**

**CAPÍTULO 13 ..... 176**

VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DO AFASTADOR FLEXÍVEL DE FÍGADO NO BYPASS GÁSTRICO ROBÓTICO

Raquel Mourisca Rabelo  
Gilberto Daniel Travecedo Ramos  
Clara Taís Tomaz de Oliveira  
Miriana Sousa Carneiro  
Bruna Sousa Ribeiro  
Maria Vitoria Evangelista Benevides Cavalcante  
Gilberto Esteban Travecedo Cervantes

**DOI 10.22533/at.ed.82319231213**

**CAPÍTULO 14 ..... 178**

ESTUDO PROSPECTIVO DE EVENTOS TROMBOEMBÓLICOS APÓS REOPERAÇÕES DE ALTA COMPLEXIDADE EM ESTIMULAÇÃO CARDÍACA ARTIFICIAL DEFINITIVA

Caio Marcos de Moraes Albertini  
Katia Regina da Silva  
Marcia Fernandes Lima  
Joaquim Maurício da Motta Leal Filho  
Martino Martinelli Filho  
Roberto Costa

**DOI 10.22533/at.ed.82319231214**

**CAPÍTULO 15 ..... 194**

EVOLUÇÃO DAS ANASTOMOSES MANUAIS COM BYPASS GÁSTRICO ROBÓTICO

Raquel Mourisca Rabelo  
Gilberto Daniel Travecedo Ramos  
Clara Taís Tomaz de Oliveira  
Miriana Sousa Carneiro  
Bruna Sousa Ribeiro  
Maria Vitoria Evangelista Benevides Cavalcante  
Gilberto Esteban Travecedo Cervantes

**DOI 10.22533/at.ed.82319231215**

<b>CAPÍTULO 16</b> .....	<b>196</b>
GESTAÇÃO NA ADOLESCÊNCIA: OPORTUNIDADE PARA A PROMOÇÃO DE HÁBITOS ALIMENTARES SAUDÁVEIS	
Ana Rafaella de Padua Lima Tatiana Honório Garcia Roberta Lamonatto Taglietti Carla Rosane Paz Arruda Teo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231216</b>	
<b>CAPÍTULO 17</b> .....	<b>210</b>
AVALIAÇÃO DE ESPIRITUALIDADE E RELIGIOSIDADE EM ESTUDANTES DE MEDICINA DURANTE VIVÊNCIA DE CUIDADOS PALIATIVOS	
Anderson Acioli Soares Alberto Gorayeb de Carvalho Ferreira Suzana Lins da Silva Mirella Rebello Bezerra Maria de Fátima Costa Caminha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231217</b>	
<b>CAPÍTULO 18</b> .....	<b>224</b>
AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA RELIGIOSIDADE NA VIDA DE ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS COM ANSIEDADE E DEPRESSÃO	
Leonardo Estevan Rosa Caldas Rosivânia de Sousa Carvalho Rodrigo Marques Campelo Laíse de Paula Maitelli Isabella de Oliveira Bom Emanuel Mattioni Arrial Hugo Dias Hoffmann Santos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231218</b>	
<b>CAPÍTULO 19</b> .....	<b>239</b>
DOR FÍSICA E EMOCIONAL DE TRABALHADORAS DA ENFERMAGEM: UMA EXPERIÊNCIA COM UM PROGRAMA ADAPTADO DE MINDFULNESS (PAM) NO CONTEXTO HOSPITALAR	
Shirlene Aparecida Lopes Vicente Sarubbi Junior Marcelo Marcos Piva Demarzo Maria do Patrocínio Tenório Nunes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231219</b>	
<b>CAPÍTULO 20</b> .....	<b>256</b>
ESPIRITUALIDADE DOS ESTUDANTES DE MEDICINA: ASSOCIAÇÕES COM EMPATIA E ATITUDE NA RELAÇÃO MÉDICO-PACIENTE	
Julianni Bernardelli Lacombe	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231220</b>	
<b>CAPÍTULO 21</b> .....	<b>266</b>
O FORTALECIMENTO DE REDES SOCIAIS EM IDOSOS COM BAIXO DESEMPENHO NO MINI EXAME DE ESTADO MENTAL	
Tiago Guimarães Reis Ana Carolina Neves Santiago Kelly Vargas Londe Ribeiro de Almeida Marilene Rivany Nunes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231221</b>	

**CAPÍTULO 22 ..... 273**

**PROJETO SAÚDE NA ESCOLA: DESMISTIFICANDO A SEXUALIDADE**

Natane Miquelante  
Ana Carolina de Lacerda  
Camila Rita de Souza Bertoloni  
Fernanda Ribeiro e Fonseca  
Mateus Lacerda Medeiros da Silva  
Thiago de Deus Cunha  
Camila Magalhães Coelho  
Rafael Rosa Marques Gomes Melo  
Cristal Pedroso Costa  
Lauriane Ferreira Morlin  
Ana Carolina Ruela Vieira  
José Diogo David de Souza

**DOI 10.22533/at.ed.82319231222**

**SOBRE A ORGANIZADORA..... 277**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 278**

## USO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO TECIDUAL EM ANIMAIS- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Data de aceite: 18/11/2018

### Lívia Carolina de Souza Dantas

Universidade Federal de Alagoas- Grupo de pesquisa Morfologia Aplicada e Saúde- Maceió- AL

### Célio Fernando de Sousa Rodrigues

Universidade Federal de Alagoas- Grupo de pesquisa Morfologia Aplicada e Saúde- Maceió- AL

### Fabiano Timbo Barbosa

Universidade Federal de Alagoas- Grupo de pesquisa Morfologia Aplicada e Saúde- Maceió- AL

### Amanda Karine Barros Ferreira Rodrigues

Universidade Federal de Alagoas- Grupo de pesquisa Morfologia Aplicada e Saúde- Maceió- AL

**RESUMO:** **Introdução:** Na tentativa de minimizar o tempo de cicatrização tecidual, diversos estudos com animais vêm apresentando como fator coadjuvante a utilização do ultrassom terapêutico. **Objetivo:** apresentar evidências científicas sobre os efeitos do ultrassom terapêutico na cicatrização de feridas cutâneas, tanto nos aspectos físicos, quanto biológicos, bem como suas indicações clínicas. **Material e método:** Realizou-se

uma busca nas bases de dados eletrônicas SciELO e PubMed, utilizando-se os descritores “ultrassom” (ultrasound), “feridas” (healing) e “fisioterapia” (physiotherapy). Como critério de inclusão considerou-se: conter os descritores no título ou resumo, os trabalhos que estavam relacionados à “terapia com ultrassom”, “ultrassom terapêutico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos *wistar*” e “fisioterapia”; textos em inglês e português; publicações entre 1987 a 2011 e livros que tratassem sobre o tema. Considerações finais: O ultrassom terapêutico de forma unânime é citado pelos autores como fator coadjuvante benéfico no processo de cicatrização de feridas cutâneas, entretanto, os parâmetros para utilização desse recurso é divergente novas pesquisas devem ser realizadas para que seja formado um consenso.

### ULTRASOUND THERAPEUTIC USE IN THE PROCESS OF HEALING TISSUE ON ANIMALS- LITERATURE REVIEW

**ABSTRACT:** **Introduction:** For the purposes of reduce the time to tissue wound healing, several animal studies have shown the use of therapeutic ultrasound as an ally in this process. **Aim:**

To investigate scientific evidence on the effects of therapeutic ultrasound on the healing of skin wounds, analyzing clinical and biological aspects as well as the indications and contraindications therapeutic use of it. **Materials and methods:** a search was performed in electronic databases SciELO and PubMed, using the keywords “ultrasound”, “wounded” and “physiotherapy”. As inclusion criteria were considered: the descriptors needed to be in the title or abstract, the publications having been related to the “ultrasound therapy”, “therapeutic ultrasound in the healing process of skin wounds in Wistar rats” and “physiotherapy”; using texts in English and Portuguese; publications between 1987-2011 and books that addressed on the subject. **Final considerations:** The therapeutic ultrasound has been quoted by all authors as contributing factor in the skinwound healing process, however, the parameters for using this feature is divergent, for this reason new researches should be carried out for a therapeutic protocol to be created.

## 1 | SELEÇÃO DO ESTUDO

Inicialmente, objetivou-se fazer uma revisão sistemática com metanálise, no entanto, durante a estratégia de busca, observou-se que os diversos artigos publicados não foram realizados com a necessária homogeneidade nos padrões de técnicas utilizadas em seus experimentos, o que dificultou a comparação entre os artigos. Os parâmetros foram diferentes, tanto quanto as intensidades, frequências e tempo de aplicação utilizada, bem como os tipos de tecidos em que os experimentos foram realizados, tais como pele, tendões, músculos e ossos. Apesar disso, a estratégia de busca utilizada seguiu os parâmetros da sistematização.

## 2 | AVALIAÇÃO DA QUALIDADE

Os critérios para avaliar a qualidade dos estudos seguiram as diretrizes do ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments). Link: [http://www.elsevier.com/\\_\\_data/promis\\_misc/622936arrive\\_guidelines.pdf](http://www.elsevier.com/__data/promis_misc/622936arrive_guidelines.pdf). Foi avaliada, a qualidade metodológica, a integralidade do período de seguimento dos estudos, método de randomização e, mascaramento dos examinadores para os resultados. O domínio dos 3R Replacement (Substituição), substituir o método que utilizam animais vertebrados vivos e conscientes. Reduction (Redução), reduzir o número de animais utilizados para obter informação representativa e precisa. Refinement (Refinamento), qualquer desenvolvimento que leve a uma diminuição na severidade de processos cruéis aplicados aos animais utilizados.

### 3 | INTRODUÇÃO

Historicamente, o ultrassom foi descoberto em 1880, pelo casal Pierre e Marie Curie. Ao aplicar uma corrente elétrica sobre um cristal de quartzo envolto por placas metálicas eles evidenciaram o efeito piezoelétrico e constataram uma vibração de alta frequência. Em seguida, durante vasto uso pela Marinha, para busca de submarinos, observou-se que alguns peixes morriam próximo à área onde era utilizado o aparelho. Dessa forma, em 1927, Wood e Loomis identificaram alterações biológicas duradouras nos tecidos irradiados pelo ultrassom. FREITAS, (2011).

Na tentativa de minimizar o tempo de cicatrização em feridas de diferentes tecidos, constantemente se buscam alternativas que colaborem com o processo de reparação tecidual. Assim surgiu a utilização do Ultrassom terapêutico que dentre os modelos utilizados, este vem se mostrando um fator coadjuvante cada vez mais frequente na medicina reparativa.

O ultrassom é uma modalidade de energia sonora, utilizada na frequência acima de 20 KHz, com propagação de ondas do tipo longitudinal, e vibração das partículas paralelamente à direção de propagação da onda. Ao ser transmitida aos tecidos biológicos, produz alterações celulares por efeitos mecânicos, DE BEM, (2010). Essa transmissão ocorre por vibração das moléculas em um meio, que deve ter propriedades elásticas. Dessa forma, o movimento de um corpo vibrando é transmitido às moléculas adjacentes, as quais antes de retornarem a posição de equilíbrio, transmitem esse mesmo movimento a outras moléculas que estão ao seu redor TER HARR, (1999).

Os efeitos do ultrassom dependem de fatores físicos e biológicos, dentre eles, o tempo de exposição, a estrutura espacial e temporal do campo ultrassônico e o estado fisiológico a ser tratado. Isso complica a compreensão exata dos mecanismos e efeitos do ultrassom terapêutico nos tecidos biológicos FERREIRA, (2007). Apesar de ser encontrado um número considerável de estudos a respeito do uso do ultrassom na cicatrização de feridas, os efeitos biológicos deste no reparado dos tecidos, assim como a padronização de tempo de aplicação, da frequência, do modo e da intensidade continuam com controversas e escassas descrições.

Nesse prisma objetivamos revisar o que há de atual sobre a utilização do ultrassom no processo de cicatrização de feridas em ratos *Wistar*, tentando identificar qual a dose terapêutica eficaz é mais utilizada dentre as propostas descritas nos trabalhos compulsados.

## 4 | MATERIAIS E MÉTODO

O presente texto trata-se de um artigo de revisão, cuja estratégia incluiu a busca por publicações nas bases de dados eletrônicas Biblioteca Virtual em Saúde (BIREME), SCIELO e PubMed. Os alvos dessa busca foram artigos originais, referentes a pesquisas experimentais, bem como as revisões bibliográficas que abordassem o uso do ultrassom terapêutico no tratamento de feridas cutâneas em animais e a forma de aplicação terapêutica do ultrassom.

Para a busca dos artigos, se utilizaram os seguintes descritores: “ultrassom terapêutico” (ultrasound therapeutic), “cicatrização feridas” (wound healing), “fisioterapia” (physiotherapy) e “animal” (animal). Estes descritores foram utilizados em diversas combinações.

Os critérios de inclusão foram artigos originais e de revisão que: contenham no título ou resumo, descritores relacionados à “terapia com ultrassom”, “ultrassom terapêutico” “processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos *wistar*” e “fisioterapia”. Os artigos utilizados não sofreram restrições quanto à idade ou sexo dos ratos.

Os critérios de exclusão foram: artigos que analisaram a cicatrização de feridas infectadas e aqueles que não abordavam direta ou indiretamente a aplicação do ultrassom no processo de reparo tecidual.

## 5 | RESULTADOS

Nas bases de dados pesquisadas, foram encontrados 64 artigos sobre o tema, dentre estes apenas 22 respeitaram os critérios de inclusão e exclusão. Os artigos analisados foram publicados nas línguas inglesa e portuguesa.

Grandes divergências foram identificadas quanto aos parâmetros utilizados na utilização do ultrassom para cicatrização de feridas cutâneas. Alguns autores abordaram efeitos biológicos e a importância de novos estudos para estabelecer uma padronização a fim de garantir melhor eficácia da técnica. A partir de ensaios clínicos, estes comprovaram os efeitos fisiológicos desse recurso comparando diferentes parâmetros de aplicação do ultrassom.

## 6 | DISCUSSÃO

A descoberta do ultrassom (US) decorreu em 1880, quando o casal Pierre e Marie Curie aplicaram corrente elétrica em um cristal de quartzo, evidenciando o efeito piezoelétrico, e assim constatando uma vibração de alta frequência. Assim em 1927, Wood e Loomis, perceberam que essas ondas poderiam acarretar mudanças

permanentes em tecidos biológicos, através da absorção das ondas ultrassônicas que geravam calor FREITAS, (2011), o que é aceito até hoje.

Há aproximadamente duas décadas, se vem discutindo os efeitos térmicos e não térmicos do US, quando se afirmou que o US, quando pulsátil, não gera calor suficiente para ocasionar alteração biológicas nos tecidos. FREITAS, (2011) afirma através de uma revisão bibliográfica onde cita os autores KITCHEN E PATRICK, (1990) e DYSON, (1987), que efeitos não térmicos do US pulsátil são benéficos no processo de cicatrização em diversos tecidos. Contudo, o autor formula sua teoria sem ter executado nenhum experimento prático sobre os efeitos térmicos do Ultrassom, baseou-se apenas em artigos de revisão para chegar a esta conclusão. Entretanto, existem divergências entre os parâmetros utilizados o que impossibilita a afirmação de forma universal. Isso gerou controversas, quando outros trabalhos como o de BLUME K et al, (2005), afirmaram que qualquer modalidade de US gera calor e ainda quando afirma que a dificuldade de alcance de equilíbrio entre o transdutor e o meio de propagação acabam por dificultar ainda mais qualquer uma das afirmativas.

Já para MARTINES, (2000) e BLUME K et al, (2005), o conceito de térmico e atérmico mencionado por PARTRIDGE, (1987); RODRIGUES & GUIMARÃES, (1998), refere-se ao fato do termo atérmico ser utilizado quando no tratamento não há percepção consciente por parte do paciente de qualquer sensação térmica. Entretanto, acreditamos que os tratamentos ditos atérmicos envolveriam a produção de baixos níveis de calor, o que possivelmente é convertido em alterações químicas no interior da célula e explicaria seus efeitos benéficos na reparação tecidual.

Há quase seis décadas, o US vem sendo utilizado como recurso terapêutico na cicatrização de diferentes tecidos, segundo ROBERTSON, (2001). Os artigos encontrados, são unânimes em relatar os efeitos benéficos do US terapêutico na cicatrização tecidual, contudo os mecanismos fisiológicos que nela atuam, ainda não estão bem esclarecidos, OLSSON et al, (2008).

Para DE BEM et al, (2010), a propagação de ondas sonoras do tipo longitudinal, e vibração das partículas paralelamente à direção de propagação da onda sonora, ao ser transmitida aos tecidos biológicos, produz alterações celulares por efeitos mecânicos. Estas alterações ao que parece auxiliam no processo de cicatrização, esses autores, a semelhança dos demais estudados, não esclarecem os reais mecanismos responsáveis pelo processo cicatricial.

BLUME K et al, (2005), acrescenta ainda que os efeitos do ultrassom dependem de fatores físicos e biológicos, dentre eles, o tempo de exposição, a estrutura espacial e temporal do campo ultrassônico e o estado fisiológico a ser tratado, tornando ainda mais obscura a compreensão exata de quais seriam estes mecanismos e efeitos do ultrassom terapêutico nos tecidos biológicos. No trabalho

desses autores não houve homogeneidade quanto ao tipo de tecido pesquisado, revisaram artigos diferentes, mesmo assim tentaram compará-los. Esse trabalho carece de significado prático, pois mesmo sabendo que a absorção das ondas ultrassônicas varia conforme o tecido biológico, os autores tentaram compará-los e dessa forma, não conseguiram concluir qual a dosimetria exata seria proposta para cada tipo de lesão tecidual nem qual o melhor tempo necessário de aplicação em cada uma delas.

A frequência do Ultrassom é o número de ondas que passam por um determinado ponto em uma unidade de tempo e é medida em Hertz (Hz). Em geral, a maioria dos artigos trazem utilização de frequências entre 1 e 3 MHz, utilizadas aleatoriamente, escolhidas de forma observacional. DE BEM et al, (2010); DIRK et al, (1997). Outros autores, ainda programam diferentes frequências, alegando que a frequência de 1MHz não é eficaz FERREIRA, (2008); DYSON, (1970); ROBERTSON, (2001). Quanto maior a frequência mais superficial se torna sua aplicação, desse modo frequências maiores são utilizadas para tratamentos mais superficiais, enquanto que baixas frequências, são utilizadas para tratamentos mais profundos SPEED, (2001). Nenhum desses autores, descreve como chegaram a frequência proposta, ao que parece fizeram uma escolha aleatória, de forma simplesmente observacional.

GUIRRO E SANTOS, (1997); TER HARR, (1999), são unânimes ao afirmarem em seus artigos que as ondas ultrassônicas podem ser aplicadas por dois métodos conhecidos como contínuo e pulsado, explicando que a diferença está na interrupção da emissão das ondas, o que poderá gerar ou não calor. Entretanto os autores não deixam diferenças claras quanto à eficácia dos métodos.

Corroborando com eles, FERREIRA (2007), KITCHEN e PARTRIDGE, (1990) DYSON, (1987); evidenciaram que no modo contínuo a irradiação promove um aquecimento dos tecidos biológicos devido à absorção de parte da energia mecânica, o que leva ao aumento do fluxo sanguíneo local, aumento temporário na extensibilidade das estruturas colagenosas como ligamentos, tendões e cápsulas articulares; diminuição da rigidez articular, redução de espasmo e dor, e produção de um discreto processo inflamatório. Estes autores também não comprovam suas conclusões tampouco relatam como chegaram a elas em seus artigos, o que tem ocorrido de forma semelhante em tantos outros que concluem seus trabalhos por observações mais pessoais que científicas. Dessa forma, os efeitos, apesar de visíveis e bem estabelecidos, ainda mantêm seus mecanismos fisiológicos imprecisos e os autores afirmam suas “teorias”, muitas vezes rebatidas por outros, como por exemplo, qual a melhor frequência? Qual a melhor dose? Pulsátil ou contínuo? Por que um é melhor que o outro? Claro que concordamos com todos eles quanto aos evidentes efeitos benéficos, contudo, seus mecanismos não estão comprovados e fora os evidentes efeitos benéficos, as demais afirmações decorrem

de trabalhos com frágil planejamento científico.

No modo pulsado, os efeitos não térmicos (mecânicos) são conhecidos como cavitação, sob o efeito de micromassagem, que consiste na reação dos tecidos à pressão da onda ultrassônica. Os efeitos benéficos da cavitação transitória na reparação de tecidos, segundo KITCHEN E PARTRIDGE, (1990), se dá a uma intensidade de 0,1 a 0,2 W/cm<sup>2</sup>. Tem sido recomendado o uso do ultrassom nos seus diferentes modos a partir de sugestões baseadas em achados em trabalhos científicos, entretanto não está elucidado quais são os parâmetros mais eficazes, tendo em vista a grande quantidade de opções de escolha combinatórias, aleatórias e empíricas destes.

Segundo LEHMANN & DELAUTER (1994), MACHADO, (1991); o tempo médio de aplicação do ultrassom terapêutico se dá entre 4 e 10 minutos por área. Em grandes áreas a mesma deve ser dividida em três ou quatro partes iguais, e aplica-se o mesmo tempo por área. PAULA, (1994); observou que o aumento da intensidade não pode compensar a diminuição do tempo de tratamento, pois o efeito produzido por cada uma dessas variáveis é diferente. Apesar da autora afirmar isso, não consta em seu trabalho qual a metodologia teria utilizado para a apuração dos efeitos/parâmetros (se é que utilizou) para concluir com tanta certeza.

OLSSONI et al, (2008), apresentaram informações sobre o Ultrassom Terapêutico (UST), relatando a existência de riscos de danos celulares decorrentes da inadequada aplicação e revela a importância de seus mecanismos de ação nos tecidos, tanto no ponto de vista físico, como nos seus aspectos biológicos. Dessa forma, fica difícil deixar claro como deve ser realizada a aplicação nas diferentes fases do processo de cicatrização de feridas e ainda como tempo, frequência e intensidade, vão interferir diretamente no resultado do método. FERREIRA, (2008), afirma que independentemente do tipo de mecanismo de interação agindo no tecido biológico estudado, o objetivo principal desta terapia é estabelecer limites para a intensidade ultrassônica, abaixo dos quais não ocorram efeitos lesivos.

Em um trabalho de revisão bibliográfica, BLUMEK et al (2005), questionam se existem parâmetros físicos e biológicos para determinação das doses de ultrassom, concluindo que as opiniões expostas na literatura sobre a duração do tratamento, intensidade, frequência, modo de aplicação (contínuo ou pulsado) e frequência do uso diferem muito. Todavia, os critérios de inclusão foram amplos, o que também torna frágeis as conclusões destes autores, pois a nosso ver, estes não poderiam comparar o efeito do US em diferentes tecidos, de diferentes animais com diferentes doses, pois não são comparáveis, ou são no máximo nas observações sobre efeitos benéficos da terapêutica ultrassônica.

A lesão de um tecido leva a uma cascata de eventos celulares e bioquímicos organizados e complexos que resultam em uma ferida cicatrizada. A reparação

tecidual pode então ser dividida em três distintas fases: (1) hemostasia e inflamação, (2) proliferação, e (3) de maturação ou remodelagem. Falhas na cicatrização de feridas continuam a ser um problema clínico significativo com grande impacto sobre os custos dos cuidados de saúde WITTE et al, (1997). O ultrassom terapêutico traz como proposta a intervenção benéfica nas diferentes fases de cicatrização, entretanto os autores aqui discutidos não apresentam teorias conclusivas sobre os efeitos biofísicos para tais resultados.

Evidências sobre o efeito do ultrassom em diferentes tecidos e diferentes parâmetros, estimularam a investigação sobre seus benefícios. OLSSONL et al, (2008), afirmam que existem efeitos benéficos quanto ao uso do US, entretanto em doses baixas o que diminuiriam as lesões teciduais e a formação de cavitações, as quais podem ocorrer com intensidades elevadas associadas ao uso da terapia contínua. Nesse momento, pode-se visualizar uma inconsistência de informações, quando comparado OLSSONL et al com MACHADO, (1991); LEHMANN & DeLATEUR, (1994) e outros já citados, visto que esses últimos afirmam que o US promove cavitação no modo pulsátil, mas não especificam as intensidades e frequências e o primeiro afirma efeito de cavitação na terapia contínua em doses elevadas.

Os macrófagos são fatores de crescimento importantes que podem atuar como mediadores da ferida durante a reparação tecidual. YOUNG e DYSON, (1990) verificaram os níveis de ultrassom que aceleram a liberação de fibroblastos a partir de uma linha celular de macrófagos estabelecidos (U937). As células U937 foram expostas *in vitro* a ultrassons contínuos, a intensidade média temporal de 0,5 W /cm<sup>2</sup> em cada 0,75 MHz ou 3,0 MHz , durante 5 min em seguida colocadas em cultura de fibroblastos 3T3. Os resultados mostraram que 0,75 MHz de ultrassom parece ser eficaz na liberação de fibroblastos pré-formado a partir de substâncias que afetam as células U937, eventualmente mediante a produção de alterações de permeabilidade, enquanto que 3,0 MHz ultrassom pareceu estimular a capacidade da célula em sintetizar e secretar fibroblastos e fatores mitogênicos.

Esse estudo experimental *in vitro* parece nortear o parâmetro a ser utilizado para o tratamento de feridas cutâneas em animais. Entretanto, convencionalmente os fabricantes dos aparelhos de ultrassom terapêuticos não produzem equipamentos que disponham da dose de 0,75 MHz. E ainda, seria necessário quantificar e caracterizar o número de fibroblastos produzidos durante a utilização do mesmo, visto que a afirmação de YOUNG e DYSON, (1990), diz ser uma consequência do UST a produção e secreção de fibroblastos.

Ao analisar os efeitos do ultrassom no processo de cicatrização de feridas excisadas em flancos de ratos adultos, de forma quantitativa, a partir da contagem de células da região da ferida, após o uso do aparelho, DYSON, (1989), afirmou

que o ultrassom pode ser útil na fases inflamatórias e no processo de reparação das feridas. Entretanto ainda não se configura aqui uma proposta de padronização de modos e parâmetros a serem utilizados, tendo o autor utilizado apenas uma variável (intensidade) para avaliar a eficácia do tratamento e esta não mostra diferenças estatisticamente significantes entre si.

DE BEM et al (2008), utilizaram o US de 3 MHz em pele sadia de ratos a fim de observar alterações biológicas permanentes, variando a frequências entre 0,5 e 2,0w/cm<sup>2</sup>. A partir dessa pesquisa os pesquisadores afirmaram que houve saturação no aumento na espessura da epiderme, infiltrado inflamatório e uma proliferação das fibras colágenas, que se apresentaram menores e adelgaçadas a partir 1,0w/cm<sup>2</sup>. Entretanto o tempo de aplicação do método foi de apenas quatro dias e a pele não havia sofrido nenhuma lesão, portanto comprovaram efeitos biológicos, mas que não são passíveis de comparação em pele lesada.

Já FERREIRA et al, (2008), analisaram os efeitos do ultrassom nas feridas cutâneas irradiados com ultrassom de baixa intensidade 1,5 MHz, 1Khz de frequência de pulso, 200ms de largura de pulso e intensidade de 30mW/cm<sup>2</sup> por duração de 10 minutos. Os animais tratados apresentaram melhor resistência e qualidade no tecido cicatricial que o grupo não tratado. Todavia, os autores não falam porque escolheram tais parâmetros para investigar dessa forma, os dados desse artigo também não podem ser utilizados como padronização de parâmetros. Apesar dos autores utilizarem em seu artigo referências que falam sobre a profundidade de absorção das ondas, onde afirmam que quanto mais alta a intensidade mais superficial a absorção, FERREIRA et al (2008), utilizaram uma intensidade que teoricamente não serviria para o tratamento de feridas cutâneas, visto ser de absorção profunda. Eles, acrescentaram ainda, no mesmo estudo, que o US de baixa intensidade não apresenta efeitos deletérios e estimula de forma moderada a cicatrização por segunda intenção. Torna-se cada vez mais evidente a inconsistência no padrão que deve ser utilizado nos tratamentos, haja visto cada artigo ter sido feito de um jeito sem a devida fundamentação teórica e científica em parte dos modelos de experimento, sendo possível afirmar apenas que o ultrassom é benéfico no processo de cicatrização de feridas e não qual a melhor forma de fazê-lo.

VISNARDI, (2007), aplicou sobre um tecido sadio, no modo pulsado, uma frequência de 1,5 MHz, largura de pulso de 200ms, por 10 min em 10 dias consecutivos com intervalo de 2 dias após a 5º aplicação. Foram feitas análises histológicas e birrefringência. Observou que não houve relação do uso do US com as fibras de colágeno, desde que em baixas intensidade. Entretanto na birrefringência, ocorreu uma desorganização das fibras sendo essas, mais presentes, nos tecidos da derme mais profunda. Apesar da análise mais específica do efeito do ultrassom no tecido em processo de cicatrização, afirmar que US em baixas intensidades ele tem efeito

benéfico, ainda deixa espaço para dúvidas sobre quais seriam estas intensidades consideradas baixas? Por que elas não causam efeito benéfico? O que elas causam então?

FERREIRA, (2007), após levantamento bibliográfico, concluiu que a irradiação ultrassônica estimula a cicatrização cutânea, podendo acelerar a reparação tecidual nas suas diferentes fases, sendo possível melhorar tanto a velocidade da cicatrização, quanto a qualidade do tecido cicatricial. É possível encontrar dados que afirmem os efeitos benéficos do US no processo de reparo tecidual, entretanto esse autor não fez experimento com diferentes doses para avaliação dos resultados. Torna-se assim, imprecisa a afirmativa de que o ultrassom estimula a cicatrização. Este trabalho ainda também deixa as mesmas dúvidas sobre qual o melhor protocolo de aplicação. Por que e como acontecem as alterações biofísicas?

FREITAS, (2011), concordando com OLSSON, (2008), FERREIRA, (2007) e outros autores já citados neste trabalho, afirmam os efeitos benéficos da terapia ultrassônica a curto e longo prazo, desde que os tempos de cicatrização possam ser respeitados, deixando muito aberta as possibilidades de aplicação do método.

## 7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise das referências utilizadas nesta pesquisa pode-se concluir que o ultrassom de forma terapêutica é um fator coadjuvante no processo de cicatrização de feridas, que sem dúvida tem efeitos benéficos amplamente observados em diferentes artigos, no entanto, não há ainda como afirmar qual o protocolo de aplicação em relação a dosimetrias, o que tornam necessárias novas pesquisas a respeito dos efeitos biológicos dessa terapêutica no processo de cicatrização de feridas e padronização protocolos que demostrem maior eficácia terapêutica.

## REFERÊNCIAS

BAKER KG, ROBERTSON VG: **A review of therapeutic Ultrasound Biophysical Effects**. Physical Therapy. v.81, 2001.

BLUME K.; MATSUO E.; LOPES M. S; LOPES L. G., **Dosimetria proposta para o tratamento por ultra-som – uma revisão de literatura**. Fisioterapia em Movimento, Curitiba, v.18, n.3, p. 55-64, jul./set., 2005.

DE BEM DAIANE et al. **Análise histológica em tecido epitelial sadio de ratos Wistar (in vivo) irradiados com diferentes intensidades do ultrassom**. Revista Brasileira de Fisioterapia [On-line], Vol.14 (Mar-Abr), 2010.

DYSON M. Mecanisms Involved in therapeutic ultrasound. **Physiotherapy**. v.3, n.73, p.116-130, 1987.

- FREITAS TP, FREITAS LS, STRECK EL. **Ultrassom Terapêutico no mecanismo de cicatrização: uma revisão.** Arquivos Catarinenses de Medicina, Vol 40, n.1, 2011.
- FERREIRA AS, MENDONÇA AC, **Ultrassom terapêutico nas lesões cutâneas: uma revisão.** Revista Fafibe [on line], n.3, agost 2007.
- FERREIRA AS, BARBIER CH, MENDONÇA AC et al, **Mensuração de área de cicatrização por planimetria após aplicação do ultra-som de baixa intensidade em pele de rato.** Revista Brasileira Fisioterapia, São Carlos, v. 12, n. 5, p. 351-8, set./out. 2008.
- GUIRRO, R.; SANTOS, S.C.B. **A realidade da potência acústica emitida pelos equipamentos de ultra-som terapêutico: uma revisão.** Revista de Fisioterapia da Universidade de São Paulo. São Paulo, v.4, n.2, p.76-82, 1997.
- KITCHEN, S.S.; PARTRIDGE, C.J. **A review of therapeutic ultrasound: Background, physiological effects and hazards.** Physiotherapy. v.76, p.593, 1990.
- LEHMANN & DELAUTER. **Diatermia pelo calor e frio superficiais,** in Kottke, FJ et al. **Tratado de medicina física e reabilitação,** 3ed; São Paulo, Manole. cap 13; p. 281-359, 1994.
- MACHADO, CM, **Ultrassom: Eletroterapia prática.** 2º edição, São Paulo: Pancast, p.143, 1991.
- MARIA B. WITTE, MD, ADRIAN BARBUL, MD, FACS, **General Principles of wound healing.** Surgical Clinics of North America.v.77, n.3, p 509-528; june 1997.
- MARTINES, M.U. et al. **O efeito do ultra-som em reações químicas.** Química Nova, v.23, n.2, p.251-256, 2000.
- MENDONÇA AC, FERREIRA AS, BARBIER CH, et al. **Efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade sobre a cicatrização por segunda intenção de lesões cutâneas totais em ratos.** Acta Ortopédica Brasileira, v.3, n.14, 2006.
- OLSSON, Débora Cristina et al. **Ultra-som terapêutico na cicatrização tecidual.** Cienc. Rural [online]. Vol.38, n.4, pp. 1199-1207, 2008.
- PAULA JL, **Ultrassom Terapêutico: considerações gerais.** Fisioterapia em Movimento. v.7, n1, p 9-16,1994.
- RODRIGUES, E.M.; GUIMARÃES, C.S. **Manual de recursos fisioterapêuticos.** Rio de Janeiro. Revinter, 145p, 1998.
- SPEED, C.A. **Therapeutic ultrasound in soft tissue lesions.** Rheumatology, n.40, p.1331-1336, 2001.
- TER HAAR, G. **Therapeutic ultrasound - Review .** European Journal of Ultrasound, v.9, p.3- 9, 1999.
- VISNARDI AR. **Efeito do ultra-som de baixa intensidade no colágeno da pele sadia de ratos [dissertação].** São Carlos (SP), Universidade de São Paulo, 2007.
- YOUNG S.R, M. DYSON, **Effect of therapeutic ultrasound on the healing of full-thickness excised skin lesions.** Ultrasonics. v.28, Maio,1990.
- WITTE, M.B.; BARBUL, A. **General principles of wound healing.** Surgical Clinics of North America, v 77, p 509- 528, 1997.

## A UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL E LACTANTE

*Data de aceite: 19/11/2018*

**Erivan de Souza Oliveira**

Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza –  
Ceará.

**Marcela Feitosa Matos**

Universidade Estadual do Ceará (UECE),  
Fortaleza – Ceará.

**RESUMO:** A utilização das plantas medicinais no tratamento de enfermidades é considerada um dos métodos mais antigos. Este trabalho teve como objetivo enfatizar as principais plantas medicinais utilizadas durante o período gestacional e lactante, e os possíveis riscos que podem ocasionar. Trata-se de um estudo exploratório, descritivo, de natureza qualitativa, apresentado sobre a forma de revisão integrativa da literatura realizada no período de janeiro a setembro de 2019 nas seguintes bases de dados: SciELO, PubMed e Lilacs. Foram selecionados 33 artigos para compor esse estudo que tinham como metodologia pesquisas de revisão integrativa da literatura, prospectiva, exploratória, descritiva e análises experimentais. Após a revisão foram encontradas 33 plantas medicinais que apresentavam riscos durante o período gestacional e lactante. As espécies medicinais mais utilizadas mundialmente no

período gestacional são a camomila, gengibre, boldo, menta e alho. Conclui-se que diversas plantas medicinais podem causar sérios riscos durante o período gestacional e lactante.

**PALAVRAS-CHAVE:** Abortivos. Fitoterapia. Gravidez. Plantas medicinais.

### THE USE OF MEDICAL PLANTS DURING THE GESTATIONAL AND LACTANT PERIOD

**ABSTRACT:** The use of medicinal plants in the treatment of diseases is considered one of the oldest methods. This study aimed to emphasize the main medicinal plants used during pregnancy and lactation, and the possible risks that they may cause. This is an exploratory, descriptive, qualitative study, presented as an integrative literature review conducted from January to September 2019 in the following databases: SciELO, PubMed and Lilacs. Thirty-three articles were selected to compose this study that had as research methodology integrative literature review, prospective, exploratory, descriptive and experimental analyzes. After the review, 33 medicinal plants were found that presented risks during the gestational and lactating period. The most used medicinal species worldwide during the gestational period are chamomile, ginger, boldo, mint and garlic. It is concluded that several medicinal plants can cause serious

risks during pregnancy and lactation.

**KEYWORDS:** Abortives. Phytotherapy. Pregnancy. Medicinal plants.

## 1 | INTRODUÇÃO

As plantas medicinais representam para a grande maioria da população o único recurso terapêutico disponível para o tratamento de enfermidades, apesar de possuírem compostos desconhecidos. Ressalta-se que a produção de medicamentos fitoterápicos no Brasil, está em constante crescimento (PONTES et al., 2012; LOPES et al., 2015). No entanto, devem apresentar certificação com relação a eficácia e segurança para o paciente (BRUM et al., 2011; DUARTE et al., 2017).

Neste contexto, as gestantes e lactantes representam um grupo de pacientes que utilizam constantemente plantas medicinais para diversos fins, sem orientação médica ou farmacêutica principalmente para o alívio de sintomas inerentes da gestação, por acreditarem que não causam danos à saúde (MELO et al., 2009). Entretanto, essa prática pode ocasionar sérios problemas ao embrião/feto e para si mesmas, pois existem várias plantas que podem estimular a motilidade uterina e podendo assim, causar aborto, além de ser teratogênico (PONTES et al., 2012; BADGUJAR; PATEL; BANDIVDEKAR, 2014; BORGES; OLIVEIRA, 2015).

Vale salientar que atualmente o único estado brasileiro que possui uma resolução sobre o uso de plantas medicinais por mulheres grávidas é o Rio Janeiro. Está resolução de número 1757 de 18 de fevereiro de 2002, considera o potencial tóxico, teratogênico e abortivo de diversas plantas medicinais e tem como objetivo informar a população e profissionais da saúde sobre os riscos da utilização de determinadas espécies vegetais no período de gestação e lactação (BARILLI et al., 2012; PONTES et al., 2012). Destaca-se que são poucas as informações disponíveis com relação a segurança das plantas medicinais durante esse período (RODRIGUES et al., 2011; TACON; AMARAL; TACON, 2017).

Considerando os aspectos descritos, este trabalho teve como objetivo enfatizar as principais plantas medicinais utilizadas durante o período gestacional e lactante, e os possíveis riscos que podem ocasionar.

## 2 | METODOLOGIA

Trata-se de um estudo exploratório, descritivo, de natureza qualitativa, apresentado sobre a forma de revisão integrativa da literatura realizada a partir dos seguintes passos: elaboração das perguntas norteadoras, busca na literatura, seleção dos artigos, coleta e síntese de dados, discussão e apresentação dos resultados.

As perguntas norteadoras de investigação utilizadas foram: “Quais **são** as plantas medicinais mais utilizadas pelas gestantes e lactantes?” e “Quais os principais efeitos causados pela utilização de plantas medicinais durante a gestação e lactação?”. Em seguida foi realizada a busca durante os meses de janeiro a setembro de 2019 nas seguintes bases de dados: SciELO, PubMed e Lilacs, para o levantamento dos achados na literatura foi utilizado os seguintes descritores: “Plantas Mediciniais”, “Fitoterapia”, “Gravidez” e “Lactação”, todos pertencentes aos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS).

Os critérios de inclusão considerados foram: artigos disponíveis nas bases de dados escolhidas de acesso público, escritos no idioma português (Brasil) e inglês, disponíveis *online* e na íntegra, indexados entre o período de 2009 a 2019. Foram excluídas às publicações que não estivessem em formato de artigo científico como teses, editoriais, debates e resenhas.

Após o levantamento preliminar nas bases de dados através dos descritores, foram encontrados no SciELO, 1.456 artigos, PubMed 65 artigos e Lilacs 39 artigos. Nesta etapa, após a leitura dos títulos e resumos (abstracts), foram excluídos os artigos repetidos em mais de uma base de dados e as publicações que não estivessem relacionadas à temática proposta nesta revisão. Aplicando-se os critérios de inclusão e exclusão foram selecionados 33 artigos para compor a presente revisão integrativa, os quais atendiam fielmente os critérios de inclusão estabelecidos.

Finalmente, realizou-se a caracterização dos artigos selecionados por meio de classificações e variáveis observadas através de uma tabela com o nome popular e científico da planta, família botânica, parte da planta utilizada, riscos e referências bibliográficas.

### **3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na tabela 1 estão expostas as informações sobre as espécies medicinais que oferecem riscos durante a gestação ou lactação. Os artigos selecionados para compor esse estudo tinham como metodologia pesquisas de revisão integrativa da literatura, prospectiva, exploratória, descritiva e análises experimentais.

<b>Nome popular</b>	<b>Nome científico</b>	<b>Família botânica</b>	<b>Parte da planta utilizada</b>	<b>Riscos</b>	<b>Referência bibliográfica</b>
Alcachofra	<i>Cynara scolimus</i>	Asteraceae	Folhas Talos	Redução do leite	Borges e Oliveira (2015)
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	Folhas Galhos	Emenagoga e abortiva	Pontes et al. (2012) Borges e Oliveira (2015) Gorri et al. (2016)
Angelica	<i>Angelica archangelica</i>	Apiaceae	Rizomas Raiz Folhas	Emenagoga Abortiva	Pontes et al. (2012)
Arnica	<i>Arnica montana</i>	Asteraceae	Flores Rizoma	Estimulante do útero	Pontes et al. (2012)
Aroeira	<i>Astronium urundeuva</i>	Anacardiaceae	Casca	Abortiva	Gorri et al. (2016)
Arruda	<i>Ruta graveolensis L.</i>	Rutaceae	Folhas Flores	Abortiva Estimulante do útero	Borges e Oliveira (2015)
Babosa	<i>Aloe vera L.</i>	Xanthorrhoeaceae	Folhas	Estimulante do útero Hemorragia Abortiva	Pontes et al. (2012) Borges e Oliveira (2015)
Boldo Verdadeiro	<i>Peumus boldus</i>	Monimiaceae	Folhas	Abortiva Citotóxica	Borges e Oliveira (2015)
Buchinha	<i>Luffa operculata L.</i>	Cucurbitaceae	Fruto Seco	Abortiva	Borges e Oliveira (2015)
Cânfora	<i>Cinnamomum canphora</i>	Lauraceae	Toda planta	Abortiva	Pontes et al. (2012)
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Lauraceae	Cascas secas	Abortiva	Gorri et al. (2016)
Camomila	<i>Matriaca recutita</i>	Asteraceae	Folhas	Emenagoga Abortiva Relaxante do útero	Borges e Oliveira (2015) Gorri et al. (2016)
Capim-santo	<i>Cymbopogon citratus</i>	Poaceae	Folhas	Relaxante uterino	Gorri et al. (2016)
Carqueja	<i>Bacharis trimera (Less)</i>	Asteraceae	Caules Folhas	Contrações uterinas Abortiva	Karam et al. (2013)
Cáscara sagrada	<i>Rhamnus purshiana DC</i>	Rhamnaceae	Casca do caule e dos ramos	Abortiva Estimulante do útero	Borges e Oliveira (2015)
Castanha-da-índia	<i>Aesculus hippocastanum L.</i>	Sapindaceae	Cascas Sementes	Abortiva	Gorri et al. (2016)
Cavalinha	<i>Equisetum arvense L.</i>	Equisetaceae	Caules Folhas	Deficiência de tiamina Abortiva	Gorri et al. (2016)

Confrei	<i>Symphitum officinalis</i>	Boraginaceae	Folhas Raízes secas.	Abortiva	Pontes et al. (2012) Gorril et al. (2016)
Cravo	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.	Myrtaceae	Botão floral Óleo essencial	Abortiva	Gorril et al. (2016)
Erva-doce	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Apiaceae	Semente Fruto seco	Abortiva	Gorril et al. (2016)
Espinheira santa	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Celastraceae	Folhas Casca Raízes	Redução do leite	Santos-Oliveira, Coulaud-Cunha e Colaço (2009)
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Myrtaceae	Folhas, às vezes flores	Estimulante do útero Abortiva	Pontes et al. (2012)
Guaco	<i>Mikania glomerata</i>	Asteraceae	Folha ou planta florida	Risco de hemorragia	Czelusniak et al. (2012)
Hortelã	<i>Mentha</i> sp	Lamiaceae	Folhas Caule	Abortiva Teratogenicidade	Gorril et al. (2016)
Ipê-roxo	<i>Tabebuia heptaphylla</i> (Vell.) Toledo	Bignoniaceae	Casca	Abortiva	Silva et al. (2012) Gorril et al. (2016)
Losna	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Asteraceae	Folhas Talo	Contrações uterinas Abortiva Cólicas Convulsões	Silva et al. (2012) Borges e Oliveira (2015) Gorril et al. (2016)
Louro	<i>Laurus nobilis</i> L.	Lauraceae	Folhas Frutos	Abortiva	Gorril et al. (2016)
Marcela	<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	Asteraceae	Flores	Abortiva	Silva et al. (2012) Gorril et al. (2016)
Pinhão-roxo	<i>Jatropha gossypifolia</i> L.	Euphorbiaceae	Folhas	Abortiva	Gorril et al. (2016)
Ruibarbo	<i>Rheum rhabarbarum</i>	Polygonaceae	Folhas	Abortiva Genotóxica Mutagênica	Borges e Oliveira (2015)
Saião	<i>Kalanchoe brasiliensis</i> Cambess.	Crassulaceae	Folhas	Abortiva	Gorril et al. (2016)
Sene	<i>Cassia angustifolia</i> e <i>Cassia acutifolia</i>	Fabaceae	Folhas	Abortiva	Pontes et al. (2012) Silva et al. (2012) Borges e Oliveira (2015)
Quebra- pedra	<i>Phyllanthus niruri</i> L.	Phyllanthaceae	Partes aéreas	Abortiva	Rodrigues et al. (2011)

Tabela 1. Relação das plantas mais utilizadas durante o período gestacional e lactante que oferecem riscos.

No que se refere as partes das plantas mais utilizadas que possuíam comprovações científicas conforme os autores, foram as folhas, cascas dos galhos, frutos e raízes, que podiam variar de planta para planta conforme os seus constituintes químicos (BOCHNER et al., 2012).

De acordo com Cardoso e Amaral (2019), as espécies medicinais mais utilizadas mundialmente no período gestacional são a camomila, gengibre, boldo, menta, equinácea, alho, cranberry, aloe, raspberry, primrose e ginseng.

No estudo realizado por Pontes et al. (2012) com 64 gestantes, foi observado que 62,50% das gestantes utilizavam o boldo, 18,75% erva cidreira, 12,50% canela, 6,25% sabugueiro, 6,25% capim santo, 6,25% cravo-da-índia, 6,25% romã, 6,25% erva-doce e 6,25% alho. Destaca-se que cerca de 17,19% dessas gestantes sofreram algum tipo de aborto.

Segundo Silva et al. (2012), a utilização do extrato de *P. boldus* pode causar aborto e alterações anatômicas quando utilizado durante a gestação. Gorriil et al. (2016), aponta que as plantas que apresentam os maiores riscos no período gestacional são a *Ruta graveolens*, *Peumus boldus* e *Luffa operculata*, com diversas evidências científicas.

Para Silva, Dantas e Chaves (2010) e Dantas et al. (2018), a falta de informação sobre os metabólitos tóxicos de determinados plantas podem acarretar sérias consequências, podendo ocasionar o parto prematuro.

De acordo com Borges e Oliveira (2015) e Louik et al. (2010), o uso de plantas medicinais deve ser um assunto bastante discutido, visto que podem causar mutagenicidade em gestantes, podendo levar a malformação no feto.

Entretanto, ressalta-se que quando utilizadas corretamente e acompanhado pelo um profissional da saúde capacitado, contribui para a eficácia do tratamento e a diminuição da automedicação que é um dos problemas de saúde pública (CAMINHA et al., 2010; RODRIGUES et al., 2011).

Dentre as plantas medicinais apresentadas na Tabela 1 utilizadas em virtude do fato de serem mais acessíveis, são usadas constantemente com base nas informações terapêuticas disponibilizadas por vizinhos e familiares (BADKE et al., 2011; MACENA et al., 2012; SOUZA et al., 2013).

Todavia, as publicações científicas informam que diversas plantas medicinais utilizadas comumente pela população, oferecem grandes riscos, vale salientar que essas informações científicas e populares devem ser disponibilizadas para a população para evitar a automedicação (TABACH, 2009; PEREIRA et al., 2014; SEGURA; FONSECA, 2015; GORRIL et al., 2016).

Cabe frisar que apesar das informações atualmente disponíveis, permanecem as discussões entres os profissionais sobre os efeitos teratogênico, embriotóxico e abortivo que algumas plantas medicinais podem causar, além das interações

medicamentosas (FIRMO et al., 2011; BOCHNER et al., 2012; PONTER et al., 2012; CAMPOS et al., 2016). Sugerindo, desta forma, a realização de mais estudos que possam corroborar sobre o consumo das plantas medicinais por gestantes e lactantes. No entanto, é importante ressaltar que é contraindicado o uso de determinadas plantas medicinais durante esse período, caso seja necessário, deve ser avaliado pelo médico ou profissional de saúde habilitado e utilizado pelo um período curto, visto os riscos que podem ocasionar (BALBINO; DIAS, 2010; ARAUJO; MACEDO, 2011; HEITMANN; NORDENG; HOLST, 2013; NASCIMENTO-JÚNIOR et al., 2016).

## 4 | CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que diversas plantas medicinais podem causar sérios riscos durante o período gestacional e lactante. Através desta revisão, evidencia-se a necessidade de mais estudos aprofundados que corroborem com os achados nessa pesquisa.

## REFERÊNCIAS

ARAUJO, P. S.; MACEDO, A. P. Percepção de risco e conceitos sobre plantas medicinais, fitoterápicos e alopáticos entre gestantes. **Revista Baiana de Saúde Pública**, [S.l.], v. 35, n. 2, p. 320-333, 2011.

BADGUJAR, S. B.; PATEL, V. V.; BANDIVDEKAR, A. H. Foeniculum vulgare Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. **Biomed Research International**, [S.l.], v. 2014, p.1-32, 2014.

BADKE, M.; BUDÓ, M. L. D.; SILVA, F. M.; RESSE, I. L. B. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Research – investigación**, [S.l.], v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.

BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.l.], v. 20, n. 6, p. 992-1000, 2010.

BARILLI, S. L. S.; PEREIRA, M. S. L.; FOSCARINI, P. T.; SILVA, F. C.; MONTANARI, T. An experimental investigation on effect of Foeniculum vulgare Mill. on gestation. **Reprodução & Climatério**, [S.l.], v.27, n.2, p.73- 80, 2012.

BOCHNER, R.; FISZON, J. T.; ASSIS, M. A.; AVELAR, K. E. S. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, **Brasil. Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.3, p.537-547, 2012.

BORGES, R. A. M.; OLIVEIRA, V. B. Riscos associados ao uso de plantas medicinais durante o período da gestação: uma revisão. **Revista Uniandrade**, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 101-108, 2015.

BRUM, L. F. S.; PEREIRA, P.; FELICETTI, L. L.; SILVEIRA, R. D. Utilização de medicamentos por gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde no município de Santa Rosa (RS, Brasil). **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.l.], v. 16, n. 5, p. 2442-2435, 2011.

- CAMINHA, M. F. C.; SERVA, V. B.; ARRUDA, I. K.; FILHO, M. B. Aspectos históricos, socioeconômicos e institucionais do aleitamento materno. **Revista Brasileira de Saúde Materno infantil**, [S.l.], v.10, n.1, p.25-37, 2010.
- CAMPOS, S. C.; SILVA, C. G.; CAMPANA, P. R. V.; ALMEIDA, V. L. Toxicidade de espécies vegetais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.1, p.373-382, 2016.
- CARDOSO, B. S.; AMARAL, V. C. S. O uso da fitoterapia durante a gestação: um panorama global. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.l.], v. 24, n. 4, p.1439-1450, 2019.
- CZELUSNIAK, K. E.; BROCCO, A.; PEREIRA, D. F.; FREITAS, G. B. L. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.2, p.400-409, 2012.
- DANTAS, A. C.; FERREIRA, S. O.; CAVALCANTE, U. M. B.; SOUZA, S. A.; SILVA, A. B.; FREITAS, F. I. S.; LIMA, C. M. B. L. Avaliação de medicamentos por gestantes em hospital de referência. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 1-8, 2018.
- DUARTE, A. F. S.; MARTINS, A. L. C.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. O uso de plantas medicinais durante a gravidez e amamentação. **Rev. Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 18, n. 4, p. 126-139, 2017.
- FIRMO, W. C. A. MENEZES, V. J. M.; PASSOS, C. E. C.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; NETO, M. S.; OLEA, R. S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, [S.l.], v.18, n. especial, 2011.
- GORRIL, L. E.; JACOMASSI, E.; JUNIOR, S. E. M.; DALSENER, P. R.; JUNIOR, A. G.; LOURENÇO, E. L. B. Risco das plantas medicinais na gestação: uma revisão dos dados de acesso livre em língua portuguesa. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 20, n. 1, p. 67-72, 2016.
- HEITMANN, K.; NORDENG, H.; HOLST, L. Safety of ginger use in pregnancy: results from a large population-based cohort study. **Eur J Clin Pharmacol.**, [S.l.], v. 69, n. 2, p.269-77, 2013.
- KARAM, T. K.; DALPOSSO, L. M.; CASA, D. M.; FREITAS, G. B. L. Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 280-286, 2013.
- LOPES, M. A.; NOGUEIRA, I. S.; OBICI, S.; ALBIERO, A. L. M. Estudo das plantas medicinais, utilizadas pelos pacientes atendidos no programa “Estratégia saúde da família” em Maringá/PR/ Brasil. **Rev. bras. plantas med.**, [S.l.], v.17, n. 4, p. 702-706, 2015.
- LOUIK, C.; GARDINER, P.; KELLEY, K.; MITCHELL, A. A. Use of herbal treatments in pregnancy. **Am J Obstet Gynecol.**, [S.l.], v.202, n.5, 2010.
- MACENA, L. M.; NASCIMENTO, A. S. S.; KRAMBECK, K.; SILVA, F. A. Plantas medicinais utilizadas por gestantes atendidas na unidade de saúde da família (USF) do bairro COHAB Tarumã no município de Tangará da Serra, Mato Grosso. **Rev. Bio Far**, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 143-155, 2012.
- MELO, S. C. C. S.; PELLOSO, S. M.; CARVALHO, M. D. B.; OLIVEIRA, N. L. B. Uso de medicamentos por gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde. **Acta paul. Enfermagem**, [S.l.], v. 22, n. 1, p. 66-70, 2009.
- NASCIMENTO-JÚNIOR, B. J.; TÍNEL, L. O.; SILVA, E. S.; RODRIGUES, L. A.; FREITAS, T. O. N.; NUNES, X. P.; AMORIM, E. L. C. Avaliação do conhecimento e percepção dos profissionais da estratégia de saúde da família sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia em Petrolina-PE, Brasil. **Rev. bras. plantas med.**, [S.l.], v.18, n.1, p. 57-66, 2016.
- PEREIRA, B. F.; GUIMARÃES, P. S.; SOUSA, S. F.; LOPES, S. P. S.; AZEVEDO, D. A.; BORGES, J. C. M. Perfil de utilização de medicamentos em gestantes assistidas em serviço público de saúde de

Gurupi, Tocantins. **Revista Cereus**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 71-91, 2014.

PONTES, S. M.; SOUZA, A. P. M.; BARRETO, B. F.; OLIVEIRA, H. S. B.; OLIVEIRA, L. B. P.; SARAIVA, A. M.; COSTA, D. A.; CARMO, E. S. Utilização de plantas medicinais potencialmente nocivas durante a gestação na cidade de Cuité-PB. **Rev. Com. Ciências Saúde**, [S.l.], v. 23, n. 4, p. 305-311, 2012.

RODRIGUES, H. G.; MEIRELES, C. G.; LIMA, J. T. S.; TOLEDO, G. P.; CARDOSO, J. L.; GOMES, S. L. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.l.], v. 13, n. 3, p. 359-366, 2011.

SANTOS-OLIVEIRA, R.; COULAUD-CUNHA, S.; COLAÇO, W. Revisão da *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae. Contribuição ao estudo das propriedades farmacológicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.l.], v. 19, n. 2, p. 650-659, 2009.

SEGURA, F. A. K.; FONSECA, M. R. C. C. Utilização de medicamentos durante a gravidez: um estudo de revisão. **Revista Saúde**, [S.l.], v. 9, n. 1-2, p. 85-95, 2015.

SILVA, J.; DANTAS, I.; CHAVES, T. Plantas utilizadas como abortivas no município de Bom Jardim PE. **Rev. Biofar.**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 117-128, 2010.

SILVA, R. C.; SANTANA, A. D.; SANTOS, A. A. P.; CERQUEIRA, G. S. Plantas medicinais utilizadas na saúde da mulher: riscos na gravidez. **Diálogos & Ciência**, [S.l.], v. 1, n. 32, p. 243-246, 2012.

SOUZA, M. N. C. V.; TANGERINA, M. M. P.; SILVA, V. C.; VILEGAS, W.; SANNOMIYA, M. Plantas medicinais abortivas utilizadas por mulheres de UBS: etnofarmacologia e análises cromatográficas por CCD e CLAE. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.l.], v. 15, n. 4, p. 763-773, 2013.

TABACH, R. Sistema de farmacovigilância em plantas medicinais. **Boletim Planfavi**, [S.l.], v. 1, n. 10, p. 1-4, 2009.

TACON, F. S. A.; AMARAL, W. N.; TACON, K. C. B. Medicamentos e gravidez: Influência na morfologia fetal. **Rev. Educ. Saúde**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 105-111, 2017.

## CajaDB: A DATABASE OF COMMON MARMOSETS (*Callithrix jacchus*)

Data de aceite: 19/11/2018

### Viviane Brito Nogueira

UFRN, Centro de Ciências da Saúde  
Natal - RN

### Danilo Oliveira Imparato

UFRN, Bioinformatics Multidisciplinary  
Environment  
Natal - RN

### Sandro José de Souza

UFRN, Instituto do Cérebro, Bioinformatics  
Multidisciplinary Environment  
Natal - RN

### Maria Bernardete Cordeiro de Sousa

UFRN, Instituto do Cérebro  
Natal - RN

**ABSTRACT:** Common marmoset (*Callithrix jacchus*), a small New World monkey, is a valuable model in different areas of investigation and recently it has been proposed for the study of neurological/neuropsychiatric diseases and cognition. One of the frontiers in neuroscience field requires handling omics large-scale data sets for connecting molecular pathways to nervous system behavior. Hence, to make the omics datasets for this species more accessible for the scientific community without a solid bioinformatics background, we

have created CajaDB, a molecular database that provides a friendly interface for genomic, expression and alternative splicing data, including tools for biological analyses. Once lateralization is a crucial aspect of the functional brain architecture for cognitive abilities, we analyzed genes expressed in the marmosets' hemispheres to illustrate the use of CajaDB. We found 24 genes with left hemisphere bias and 25 genes with right hemisphere bias. CajaDB is available at [cajadb.neuro.ufrn.br](http://cajadb.neuro.ufrn.br)

**KEYWORDS:** Transcriptomics, molecular database, neuropsychiatric primate model, laterality, brain asymmetry

### CajaDB: UMA PLATAFORMA PARA DADOS MOLECULARES DE SAGUI COMUM (*Callithrix jacchus*)

**RESUMO:** O sagui comum (*Callithrix jacchus*), um pequeno macaco do Novo Mundo, é um modelo valioso em diferentes áreas de investigação e recentemente foi proposto para o estudo de doenças neurológicas/neuropsiquiátricas e cognição. Uma das fronteiras no campo da neurociência requer o manuseio de conjuntos de dados em grande escala para conectar caminhos moleculares ao comportamento do sistema nervoso. Portanto,

para tornar os dados das -ômicas desta espécie mais acessíveis à comunidade científica sem uma sólida formação em bioinformática, criamos o CajaDB, uma base de dados moleculares que fornece uma interface amigável para dados genômicos, de expressão e de *splicing* alternativo, incluindo ferramentas para análises biológicas. Uma vez que a lateralização hemisférica é um aspecto crucial da arquitetura funcional do cérebro para habilidades cognitivas, analisamos os genes expressos nos dois hemisférios de saguis para ilustrar do CajaDB. Foram encontrados 24 genes com viés no hemisfério esquerdo e 25 genes com viés no hemisfério direito. O CajaDB está disponível em [cajadb.neuro.ufrn.br](http://cajadb.neuro.ufrn.br).

**PALAVRAS-CHAVE:** Transcriptômica, banco de dados moleculares, modelo de primata neuropsiquiátrico, lateralidade, assimetria cerebral

## 1 | INTRODUCTION

Animal models have been crucial in biomedical research once a large part of human experimentation is unfeasible or unethical. Common marmoset (*Callithrix jacchus*), a small New World primate, is widely used as a model in several areas of research. In the neuroscience field, it has progressively gained space for both cognitive studies and investigation of neuropsychiatric conditions such as Parkinson's disease (PHILLIPS et al., 2017), Alzheimer's disease (PHILIPPENS et al., 2017) and depression (Galvão-Coelho et al., 2008; 2017). Besides sharing some behavioral characteristics regarding their social organization with humans (MILLER et al., 2016), their use as a model holds advantages of easy handling in a lab setting and reproduction at a rate that makes genetically manipulated models of disorders feasible (KISHI et al., 2014).

Recently, large-scale technologies (the omics, e.g. genomics, transcriptomics, and proteomics) have revolutionized biological studies at a molecular level. The use of data generated by these technologies represents a great opportunity to molecular neuroscience research. One of the greater challenges in the omics is the organization of data to extract new scientific knowledge. Simple levels of data organization do not represent the inherent potential information, and it is noteworthy that integration of data across different observations is especially important in neurobiology (GESCHWIND; KONOPKA, 2009).

In this regard, we developed the CajaDB, an application for interactive visualization of omics data of common marmosets, including tools for biological analysis. The application was totally designed to facilitate its use by individuals without bioinformatics background. A database with interactive visualization of data from a neurobiological model will hopefully culminate in a greater prospect of new

investigations for the alternative approaches for treatment of neurological diseases and in a deeper understanding of brain functioning.

The left and right cerebral hemispheres are functional and anatomical asymmetric, which is implicated in cognitive performance and behavior expression. This has been largely described in humans (HERVÉ et al., 2013); (POBRIC; LAMBON RALPH; ZAHN, 2016) and non-human primates (ATKINSON; ROGERS; CHEVERUD, 2016; CHANCE et al., 2013), including marmosets (GORDON; ROGERS, 2010, 2015); (HOOK-COSTIGAN; ROGERS, 1998); (HOOK; ROGERS, 2000); (PIDDINGTON; ROGERS, 2013). As hemispheric laterality is a conserved trait of the nervous system in vertebrates (OCKLENBURG; GÜNTÜRKÜN, 2012), genetics approaches on models can provide new insights on the complex polygenic neural pathways probable involved in handedness and language lateralization found in humans. Currently, there are no laterality studies of marmosets including a molecular contextualization reported in the literature. In this context, to illustrate the use of CajaDB, we studied genes differentially expressed in the left and right brain's hemispheres of common marmosets.

## 2 | METHODS

### Tissue samples and data source

Common marmoset reference genome (MARMOSSET GENOME SEQUENCING AND ANALYSIS CONSORTIUM, 2014) and transcriptome were downloaded from the UCSC genome browser. Public RNA sequencing (RNA-seq) reads showing high sequence coverage from three different projects were downloaded from the SRA/NCBI, as follows: 1) (CORTEZ et al., 2014) (frontal cortex, cerebellum, heart, kidney, liver – all from male and female. Ovary and testis); 2) (PENG et al., 2015) (bone marrow, brain left hemisphere, pituitary, brain right hemisphere, colon, heart, kidney, liver, lung, lymph node, skeletal muscle, spleen – all from female) and 3) (PIPES et al., 2013) (bladder, hippocampus, skeletal muscle - from male. Cerebral cortex and cerebellum from female). Those summarize expression data of 25 non-redundant common marmoset tissues, where male and female were treated separately.

### Data processing

All RNA-seq reads were mapped using TopHat v2.1.0 (Bowtie2 - 2.2.5, (LANGMEAD et al., 2009; TRAPNELL; PACHTER; SALZBERG, 2009) to the reference genome assembly. Cufflinks 2.2.1 (TRAPNELL et al., 2010) was used to calculate the expression in FPKM (fragments per kilobase of transcript per million mapped reads) values for all genes in the genome. To identify and visualize

alternative splicing events (exon skipping, intron retention and alternative 5' and 3' splicing borders), Splicing Express (KROLL et al., 2015) was performed.

### **Classification of marmosets' genes with regards to transcriptional levels**

For specificity classification of genes by tissues, a cutoff value of 0.5 FPKM was used. Each of the 16,206 genes were classified, described by (FAGERBERG et al., 2014), into one of eight categories based on the FPKM levels in 25 tissues: (1) Not detected - > 1 FPKM in all 25 tissues; (2) Tissue-specific - 50-fold higher FPKM level in one tissue compared with all other tissues; (3) Tissue enriched - fivefold higher FPKM level in one tissue compared with all other tissues; (4) Group enriched - fivefold higher average FPKM level in a group of 2–7 tissues compared with all other tissues; (5) Mixed low - detected in 1–24 tissues and at least one tissue < 10 FPKM; (6) Mixed high - detected in 1–24 tissues and all detected tissues > 10 FPKM; (7) Expressed in all low - detected in 25 tissues and at least one tissue < 10 FPKM; and (8) Expressed in all high - detected in 25 tissues and all tissues > 10 FPKM.

### **Marmoset genes associated with neuropsychiatric disorders**

To list the common marmoset genes associated with neuropsychiatric disorders, comparative genomics analysis was applied focusing on the similarity between the annotation of human and marmoset genomes. The section “nervous system disease” in the catalog of published genome-wide association studies (GWAS, (WELTER et al., 2014)) has 756 candidate genes, which were used as the reference.

### **Application for interactive visualization of data**

The CajaDB, available in [cajadb.neuro.ufrn.br](http://cajadb.neuro.ufrn.br), has a modular architecture. Home module has information to guide in data exploration. Genome module has a genome visualization tool: interactive diagram with highlighted genes associated with neuropsychiatric disease. Expression module has an interactive heatmap (Clustergrammer from MaayanLab) with filtering, ordering and snapshot tools where is possible to estimate the ontology of a set genes through EnrichR tool (KULESHOV et al., 2016). Also in the expression module, there is a tool to visualize the protein-protein-network through STRING, an application with known and predicted protein-protein interactions (SZKLARCZYK et al., 2015). In the Splicing module, data of canonical and alternative isoforms combined to alternative splicing events are available for a specific gene, for all genes across all tissues.

## EXAMPLE OF USE

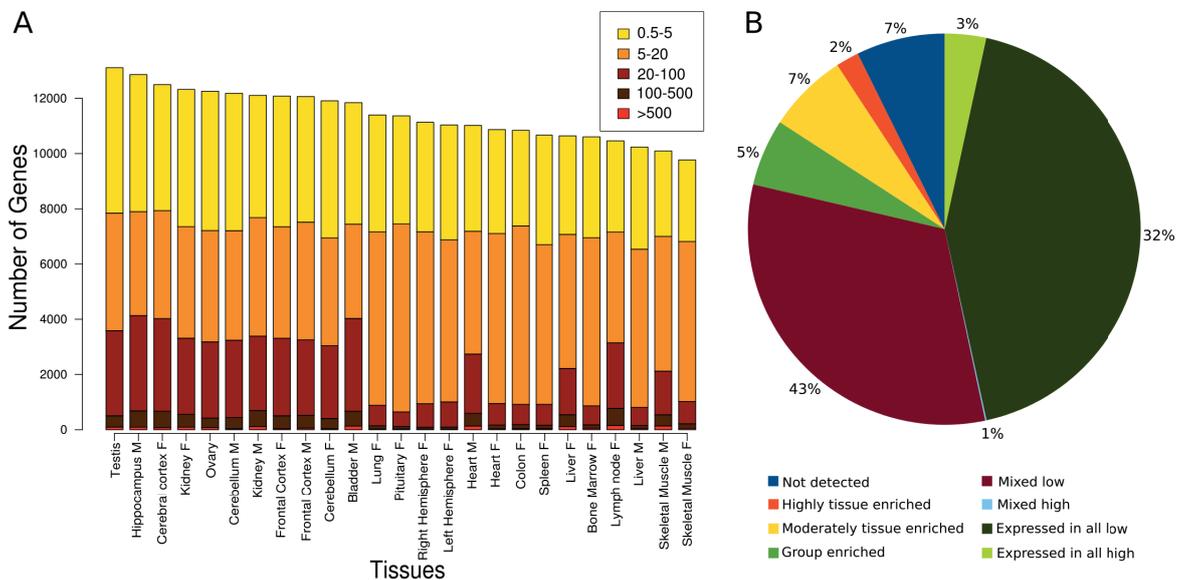
### Differential gene expression in laterality

Cuffdiff (TRAPNELL et al., 2012) was used to estimate the differential expression between brain left and right hemispheres data from Peng et al., 2014 at the transcript level. P-values were adjusted by false-discovery rate (FDR) (BENJAMINI; HOCHBERG, 1995).

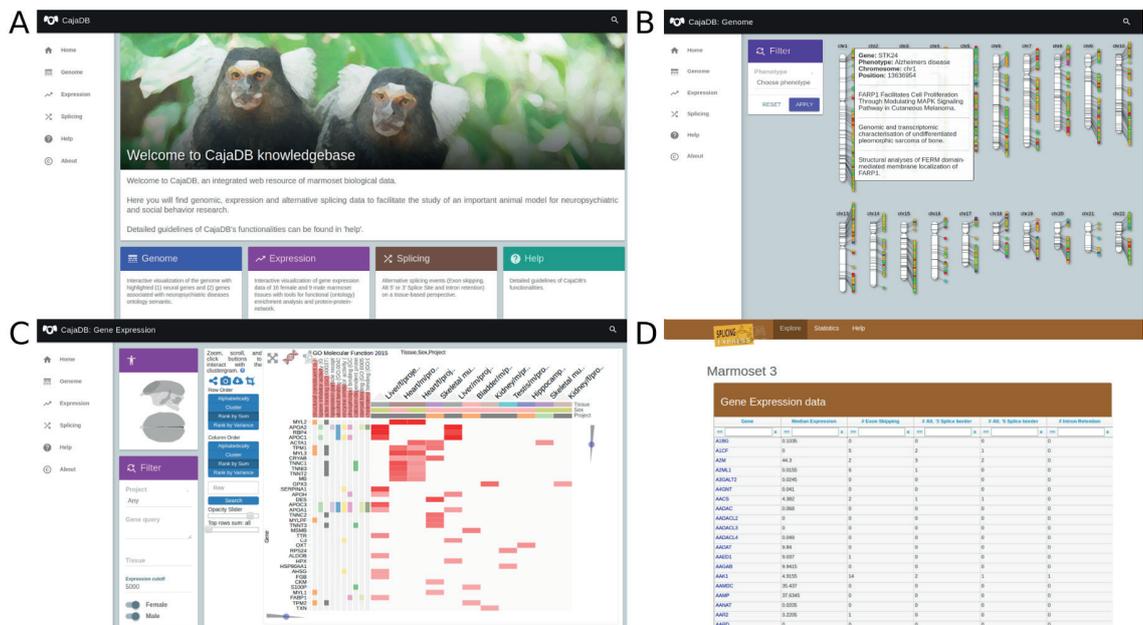
Public gene expression data for several tissues was quantified to determine the normalized RNA abundance, calculated as FPKM-values. In these analyses, a cutoff of 0.5 FPKM was used. The number of detected genes ranged from 13.108 in the testis to 9.770 in skeletal muscle (Figure 1A). The transcriptome analysis of 25 samples allowed a classification of a set of 16,206 protein-coding genes regarding tissue-specific expression pattern (Figure 1B). This classification was divided into four major classes, afterward subdivided into subclasses according to the criteria determined by Fagerberg et al., (2014). The first class presents genes (approximately 35%) expressed ubiquitously in marmoset tissues, the “housekeeping genes”. The second class has genes expressed in only a subset (2–24) of tissues, but not identified as tissue-specific, which accounted for the largest part of marmoset genes (approximately 44%). This result diverges from the distribution of human transcriptome (Fagerberg et al., 2014), where the largest part of genes accounted for housekeeping genes. Elevated levels of expression in a particular tissue or a group of related tissues are placed in the third class accounting for approximately 14% of genes (categories Highly tissue enriched, Moderately tissue enriched and Group enriched). The fourth class was for non-detected genes (approximately 7%). These processed data can assist in the understanding of different tissue signatures and the associated biological functions, including sexual differences.

To make information of genes associated with neuropsychiatric disorders and tissue-specific RNA-seq data from common marmosets more accessible to the scientific community without a solid bioinformatics background, we created CajaDB (Figure 2), a web application available at [cajadb.neuro.ufrn.br](http://cajadb.neuro.ufrn.br). This application provides a friendly interactive visualization tool for genomic, expression and alternative splicing data, including tools for enrichment analysis and PPI network. Users can navigate through the website by: (i) selecting genes of interest (either through imputed lists or pre-compiled lists containing neural/neuropsychiatric-associated genes); (ii) checking the expression of selected genes in a transcriptome visualization tool where it is possible to filter, reorganize, order the data and take high-quality snapshots to use in scientific publications; (iii) visualizing the selected genes in the protein-protein-network through STRING; and (iv) getting information about

simple splicing alternative events (exon skipping, intron retention and alternative 5' and 3' splicing borders) by gene across tissues. It is also possible to retrieve all the data available in the CajaDB through a MySQL dump.



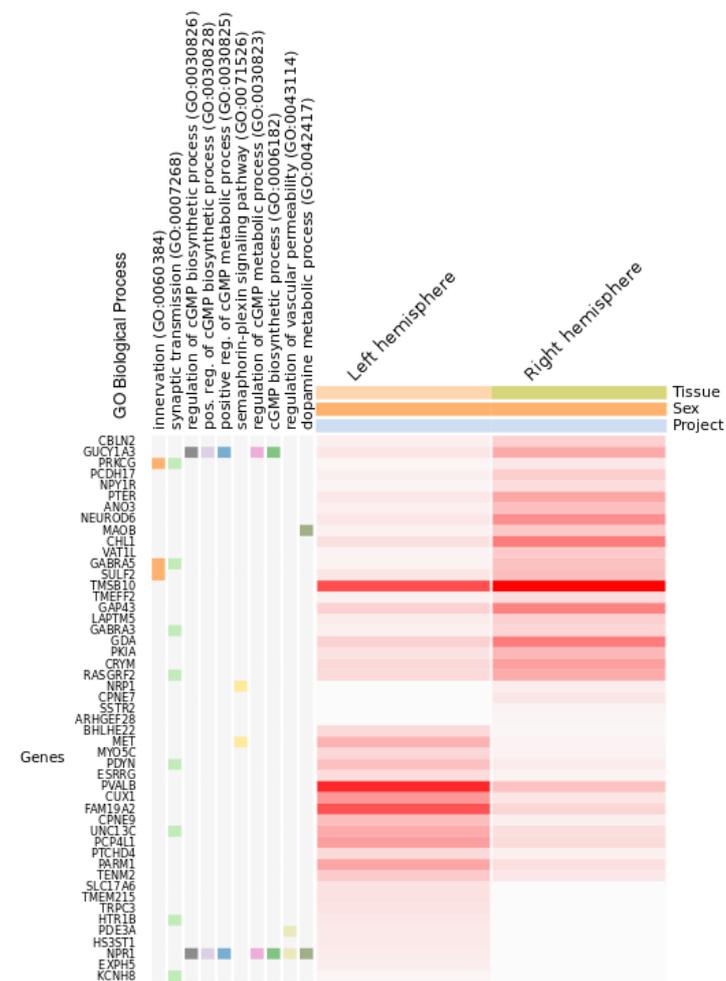
**Figure 1 – Expression pattern of marmoset genes across tissues.** A) Total number of genes with detected transcripts in each tissue using five different abundance levels for FPKM values: 0.5-5 FPKM (yellow), 5-20 FPKM (orange), 20-100 FPKM (light brown), 100-500 FPKM (dark brown), >500 FPKM (red). B) Distribution of 16,206 marmoset genes into eight different categories based on the number of detected tissues. Abbreviations: T – testis, Hi – hippocampus, Cc – Cerebral Cortex, K – Kidney, O – Ovary, Ce – Cerebellum, Fc – Frontal Cortex, Bl – Bladder, Lu – Lung, P – Pituitary gland, Rh – Brain Right Hemisphere, Lh – Brain Left Hemisphere, H – Heart, Cl – Colon, Sp – Spleen, Li – Liver, Bm – Bone Marrow, Ln – Lymph Node, Sk – Skeletal muscle and Go – Gonads.



**Figure 2 - CajaDB: a platform for visualization of common marmosets' molecular data.** A) Home module containing guidelines to easy-to-handle functionalities; B) Genome module with information of neural genes and genes associated with neuropsychiatric disorders; C) Expression module holding tissue-specific expression data with distinct samples quantification by sex, including tools for enrichment analysis and protein-protein-network visualization; D) Splicing module for alternative splicing data visualization, per gene, across all tissues.

## Marmosets' laterality

To illustrate the use of CajaDB, we studied marmosets' RNA-seq of brain left and right hemispheres from Peng. et al., (2014). A total of 49 genes differentially expressed were found in the hemispheres. To understand the biological processes linked to these genes, we identified the enriched categories using the CajaDB tool for enrichment analysis. We also used the CajaDB to visualize gene expression in the hemispheres and to generate the Figure 3 (functionality of screenshot in the Expression module). The biological categories of innervation, synaptic transmission, and regulation of cGMP biosynthetic process were identified.

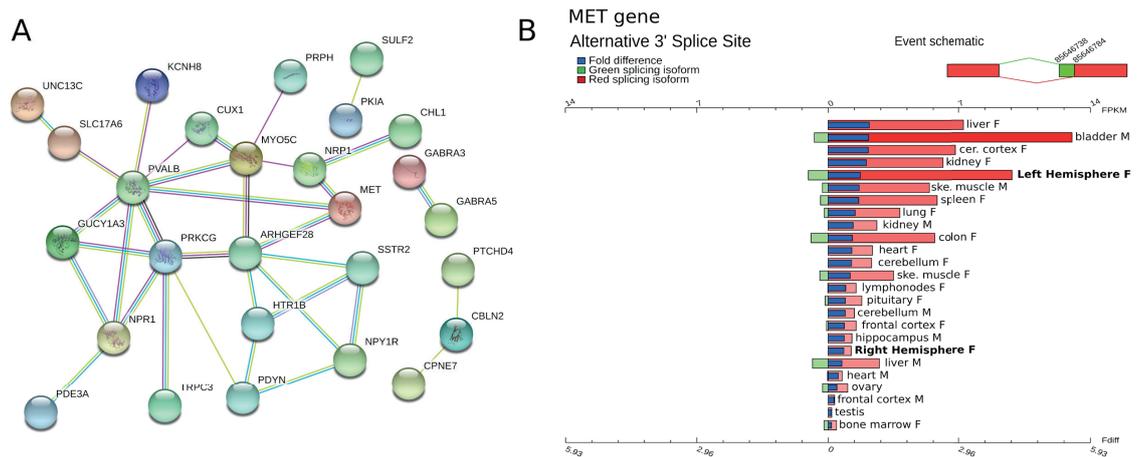


**Figure 3 - Genes differentially expressed in the brain right and left hemispheres of common marmosets.** Expression data of female marmoset from Peng et al. 2014 with differential expression elucidated by Cuffdiff. Categories of biological process from Gene Ontology is presented. Higher expression is represented by dark red. Lower expression is represented by light red.

Protein interactions mediate important biological processes. We generated the protein-protein interaction (PPI) network (data from StringDB, the tool is available at CajaDB) of genes with differential expression in the marmoset's hemispheres.

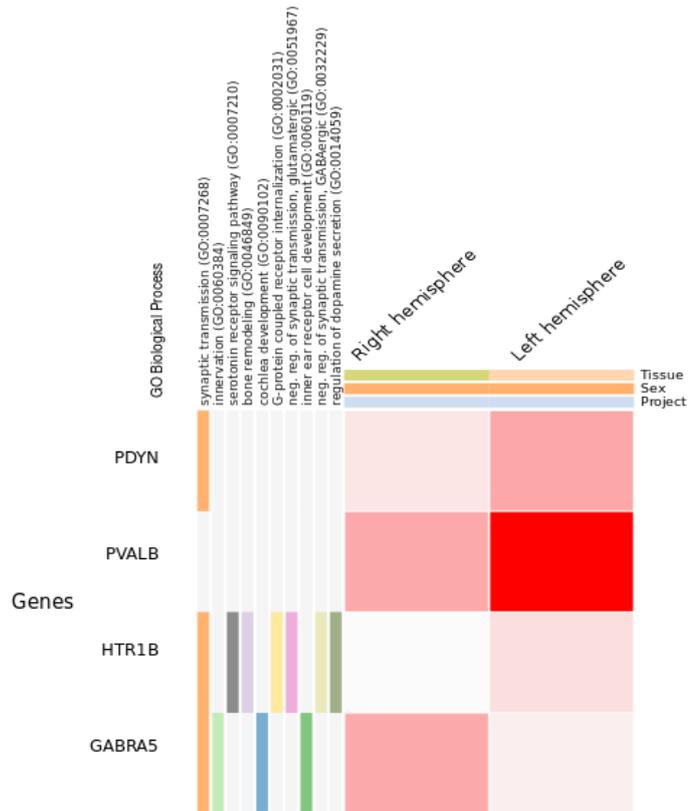
Medium- and high-confidence interactions are shown in the Figure 4A and for this analysis, we excluded genes which have presented no protein connections.

Additionally, alternative splicing is one of the main biological mechanisms controlling the wide variability of mRNA and protein isoforms across tissues. In the CajaDB, it is possible to retrieve plots of alternative splicing events for all marmosets genes (generated through the Splicing Express). As an example, a specific alternative 3' splice site event in MET receptor, for brain left hemisphere, is shown in Figure 4B. MET gene is differentially expressed in the marmosets' hemispheres.



**Figure 4 - Protein-protein network of genes differentially expressed in hemispheres of marmosets and alternative splicing of MET gene.** A) Protein-protein-interaction network (STRING, visualized through CajaDB) of genes with differentially expressed in marmosets' brain right and left hemispheres. B) Alternative splicing across all tissues (alternative 3' splice site) of MET gene (also known as hepatocyte growth factor receptor, is a proto-oncogenic receptor tyrosine kinase), which has differential expression in the marmosets hemispheres.

In a human lateralization study with the focus on language, 75 genes were described as differentially expressed between the left and right hemispheres. These genes were related to the synaptic transmission, nervous system development and glutamate receptor activity categories. To provide the translational value of marmosets, we compared our set of genes with genes listed by them (KARLEBACH; FRANCKS, 2015). We found GABRA5, HTR1B, PDYN and PVALB genes present on both marmoset and human sets (Figure 5).



**Figure 5 - Orthologs differentially expressed in the brain right and left hemispheres of marmosets and humans.** The PDYN, PVALB, HTR1B and GABRA5 genes are a result of merging differentially expressed genes of brain right and left hemispheres in marmosets and genes differentially expressed in the same tissues in humans (by Karlebach and Francks 2015).

## DISCUSSION

CajaDB, the most comprehensive molecular database in marmosets, provides an intuitive interface to visualize and explore genomic, transcriptomic and alternative splicing data. Our application not only allows the user to navigate the genomic data, but it is also possible to select human orthologs related to neuropsychiatric diseases, with information about the genes functions. CajaDB is a valuable resource for transcriptional studies once tissue-specific and sex-specific data are available and can guide research questions. A set of tools for biological analyses are supported such as enrichment analysis and protein-protein-network. Another important aspect of CajaDB is that the web design is suited for desktop and mobile devices. Researchers can explore data in genomic, expression, splicing alternative, functional (ontology) and protein-protein-network contexts. Hopefully, these centralized resources will provide numerous benefits to address and to respond to scientific questions.

Brain circuitry knowledge is limited, in part due to the technical limitations of measuring brain activity in humans. Animal models have been and will continue to be demanding to study many aspects of cerebral behavior. Evidence for hand

preference associated with cognitive correlates was described in marmosets. Those with hand preference were able to perform simultaneously two tasks (foraging and predator detection) better than those without hand preference (PIDDINGTON; ROGERS, 2013). In the laterality context, we found hemisphere-biased expression in 49 genes, where 24 were biased for left hemisphere and 25 were biased for right hemisphere. (HOOK-COSTIGAN; ROGERS, 1998) showed that marmosets present laterality for (1) negative emotions expressions and vocalizations and (2) communication in social contact, in right and left hemispheres, respectively. This pattern is also found for speech and emotional control expressions in humans (GRUBER; GRANDJEAN, 2017).

Indeed, humans and marmosets share features of cognition (MILLER et al., 2016). Our findings show GABRA5, HTR1B, PDYN and PVALB differentially expressed in both humans and marmosets. PDYN is a precursor of some molecules, including the dynorphin which modulates responses to several psychoactive substances. The dynorphin/kappa opioid receptor system has been the target of research for neuropsychiatric disorders and normal brain functioning (SHIPPENBERG, 2009). Lateralization in the mechanism mediating the response of dynorphin A was observed in a traumatic brain injury (HUSSAIN et al., 2012). We envision that studying cerebral asymmetry comparing gene expression patterns would be a good strategy to investigate laterality of cognition in marmosets.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by Amazonas State Research Support Foundation (FAPEAM), Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN), Brain Institute, Bioinformatics Multidisciplinary Environment (BioME), NPAD/UFRN and Brazilian Council for Research and Technological Development (CNPq Proc. No. 30.6018/2013-6). We would like to give special thanks to the BioME core, for their endless patience during this work.

## REFERENCES

- ATKINSON, E. G.; ROGERS, J.; CHEVERUD, J. M. Evolutionary and developmental implications of asymmetric brain folding in a large primate pedigree. **Evolution**, v. 70, n. 3, p. 707–715, Mar. 2016.
- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)**, v. 57, n. 1, p. 289–300, Jan. 1995.
- CHANCE, S. A. et al. Hemispheric asymmetry in the fusiform gyrus distinguishes Homo sapiens from chimpanzees. **Brain Structure & Function**, v. 218, n. 6, p. 1391–1405, Nov. 2013.

- CORTEZ, D. et al. Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. **Nature**, v. 508, n. 7497, p. 488–493, 24 Apr. 2014.
- FAGERBERG, L. et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 13, n. 2, p. 397–406, Feb. 2014.
- GESCHWIND, D. H.; KONOPKA, G. Neuroscience in the era of functional genomics and systems biology. **Nature**, v. 461, n. 7266, p. 908–915, 15 Oct. 2009.
- GALVÃO-COELHO, N.L.; SILVA, H.P.A.; LEÃO, A.C.; SOUSA, M.B.C. (2008). Common marmosets (*Callithrix jacchus*) as a potential animal model for studying psychological disorders associated with high and low responsiveness of hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Reviews in Neuroscience**. v. 19, p. 187-201. 2008.
- GALVÃO-COELHO, N.L.; GALVÃO, A.C.M.; SILVA, F.S.; SOUSA, M.B.C. Common marmosets: A potential translational animal model of juvenile depression. **Front. Psychiatry**, v. 8, p. 175. 2017.
- GORDON, D. J.; ROGERS, L. J. Differences in social and vocal behavior between left- and right-handed common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Journal of Comparative Psychology**, v. 124, n. 4, p. 402–411, Nov. 2010.
- GORDON, D. J.; ROGERS, L. J. Cognitive bias, hand preference and welfare of common marmosets. **Behavioural Brain Research**, v. 287, p. 100–108, 24 Mar. 2015.
- GRUBER, T.; GRANDJEAN, D. A comparative neurological approach to emotional expressions in primate vocalizations. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 73, p. 182–190, 2017.
- HERVÉ, P.-Y. et al. Revisiting human hemispheric specialization with neuroimaging. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 17, n. 2, p. 69–80, Feb. 2013.
- HOOK-COSTIGAN, M. A.; ROGERS, L. J. Lateralized use of the mouth in production of vocalizations by marmosets. **Neuropsychologia**, v. 36, n. 12, p. 1265–1273, Dec. 1998.
- HOOK, M. A.; ROGERS, L. J. Development of Hand Preferences in Marmosets (*Callithrix jacchus*) and Effects of Aging Development of Hand Use and Hand Preferences for. v. 114, n. 3, p. 263–271, 2000.
- HUSSAIN, Z. M. et al. Lateralized response of dynorphin a peptide levels after traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 29, n. 9, p. 1785–1793, 10 Jun. 2012.
- KARLEBACH, G.; FRANCKS, C. Lateralization of gene expression in human language cortex. **Cortex**, v. 67, p. 30–36, Jun. 2015.
- KISHI, N. et al. Common marmoset as a new model animal for neuroscience research and genome editing technology. **Development, Growth & Differentiation**, v. 56, n. 1, p. 53–62, 5 Jan. 2014.
- KROLL, J. E. et al. Splicing Express: a software suite for alternative splicing analysis using next-generation sequencing data. **PeerJ**, v. 3, p. e1419, 19 Nov. 2015.
- KULESHOV, M. V. et al. Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. W1, p. W90-7, 8 Jul. 2016.
- LANGMEAD, B. et al. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. **Genome Biology**, v. 10, n. 3, p. R25, 4 Mar. 2009.

- MARMOSET GENOME SEQUENCING AND ANALYSIS CONSORTIUM. The common marmoset genome provides insight into primate biology and evolution. **Nature Genetics**, v. 46, n. 8, p. 850–857, Aug. 2014.
- MILLER, C. T. et al. Marmosets: A neuroscientific model of human social behavior. **Neuron**, v. 90, n. 2, p. 219–233, 20 Apr. 2016.
- OCKLENBURG, S.; GÜNTÜRKÜN, O. Hemispheric asymmetries: the comparative view. **Frontiers in psychology**, v. 3, p. 5, 26 Jan. 2012.
- PENG, X. et al. Tissue-specific transcriptome sequencing analysis expands the non-human primate reference transcriptome resource (NHPRTR). **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. Database issue, p. D737-42, Jan. 2015.
- PHILIPPENS, I. H. et al. Acceleration of Amyloidosis by Inflammation in the Amyloid-Beta Marmoset Monkey Model of Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 55, n. 1, p. 101–113, 2017.
- PHILLIPS, K. A. et al. Behavioral phenotypes associated with MPTP induction of partial lesions in common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Behavioural Brain Research**, v. 325, n. Pt A, p. 51–62, 15 May 2017.
- PIDDINGTON, T.; ROGERS, L. J. Strength of hand preference and dual task performance by common marmosets. **Animal Cognition**, v. 16, n. 1, p. 127–135, Jan. 2013.
- PIPES, L. et al. The non-human primate reference transcriptome resource (NHPRTR) for comparative functional genomics. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. Database issue, p. D906-14, Jan. 2013.
- POBRIC, G.; LAMBON RALPH, M. A.; ZAHN, R. Hemispheric Specialization within the Superior Anterior Temporal Cortex for Social and Nonsocial Concepts. **Journal of Cognitive Neuroscience**, v. 28, n. 3, p. 351–360, Mar. 2016.
- SHIPPENBERG, T. S. The dynorphin/kappa opioid receptor system: a new target for the treatment of addiction and affective disorders? **Neuropsychopharmacology**, v. 34, n. 1, p. 247, Jan. 2009.
- SZKLARCZYK, D. et al. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. Database issue, p. D447-52, Jan. 2015.
- TRAPNELL, C. et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. **Nature Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 511–515, 2 May 2010.
- TRAPNELL, C. et al. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. **Nature Protocols**, v. 7, n. 3, p. 562–578, 1 Mar. 2012.
- TRAPNELL, C.; PACHTER, L.; SALZBERG, S. L. TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. **Bioinformatics**, v. 25, n. 9, p. 1105–1111, 1 May 2009.
- WELTER, D. et al. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. Database issue, p. D1001-6, Jan. 2014.

## CAPACITAÇÃO EM GINÁSTICA LABORAL NA PREVENÇÃO DE DORT'S PARA AGENTES COMUNITÁRIO DE SAÚDE

Data de aceite: 19/11/2018

### **Daniel de Souza Reis**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Arthur Gontijo de Lacerda**

União das Faculdades dos Grandes Lagos, São  
José do Rio Preto –SP – UNILAGO

### **Caroline Domingos Pierazzo**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Daniilo Pereira Lima Santos**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Fernanda Alves Correia**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Hanne Saad Carrijo Tannous**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Kenzo Holayama Alvarenga**

Médico formado pelo do Centro Universitário de  
Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Karina Rezende Nascimento**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Leonardo Faria Ornella Torres**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Larissa Fonseca Tavares**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Matheus Alves de Castro**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

### **Rafaela Fernandes Palhares**

Acadêmico do curso de Medicina do Centro  
Universitário de Patos de Minas- MG-UNIPAM

**RESUMO:** Os distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho (DORT) são danos decorrentes da utilização excessiva imposta ao sistema musculoesquelético e da falta de tempo para recuperação. O tratamento não é exclusividade médica. É desejável participação multiprofissional. Esse projeto objetivou analisar a prevalência de DORT e capacitar as ACS sobre a importância da ginástica laboral para prevenção de DORT e assim desempenhar promoção de saúde e prevenção de doenças por toda área 28 da Unidade Básica de Saúde (UBS) André Luís em Patos de Minas- MG. É um estudo quantitativo, descritivo e transversal onde foi aplicado um questionário às ACS na UBS André Luís respondido por seis ACS e posteriormente, foi realizada uma palestra sobre o tema. A partir dos resultados 67% das ACS consideram ter conhecimento sobre DORT e 57% sabem os sintomas, fatores de risco e prevenção. Além disso, as ACS visitam 1463

famílias e 67% têm mais de 41 famílias com DORT. Com este trabalho concluímos que existe prevalência de DORT na área 28 e apesar dos resultados mostrarem que as ACS relataram conhecer DORT, durante a palestra notamos grande interesse sobre o que estava sendo proposto e elas avaliaram ter aprendido muita coisa que elas desconheciam. Dessa forma, este trabalho busca atuar na capacitação em GL para ACS, já que essa contribui para diminuir as consequências da DORT. Nesse sentido, entende-se que este projeto beneficia não só as ACS, mas todos os moradores desta área de Patos de Minas, além de atingir todos os níveis de prevenção em saúde.

**PALAVRAS-CHAVE:** Distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho (DORT), ginástica laboral, agente comunitário de saúde (ACS), capacitação.

## TRAINING IN LABOR GYMNASTICS IN PREVENTION OF WRMSD FOR COMMUNITY HEALTH AGENTS

**ABSTRACT:** Work-related musculoskeletal disorders (WRMSD) are injuries resulting from overuse of the musculoskeletal system and lack of time for recovery. The treatment is not medical exclusivity. Multiprofessional participation is desirable. This project aimed to analyze the prevalence of WMSD and enable CHAs on the importance of occupational gymnastics for WMSD prevention and thus perform health promotion and disease prevention throughout area 28 of the Basic Health Unit (BHS) André Luís in Patos de Minas - MG. It is a quantitative, descriptive and cross-sectional study where a questionnaire was applied to the CHA at UBS André Luís answered by six CHA and later, a lecture was held on the subject. From the results 67% of CHAs consider to have knowledge about WMSD and 57% know the symptoms, risk factors and prevention. In addition, ACS visit 1463 families and 67% have more than 41 families with WRMSD. With this work we concluded that there is a prevalence of WMSD in area 28 and although the results show that the CHA reported knowing WMSD, during the lecture we noticed a great interest about what was being proposed and they assessed having learned a lot that they did not know. Thus, this work seeks to work on training in LG for CHA, as it contributes to reduce the consequences of WMSD. In this sense, it is understood that this project benefits not only the CHAs, but all residents of this area of Patos de Minas, in addition to reaching all levels of health prevention.

**KEYWORDS:** Work-related musculoskeletal disorders (WMSD), occupational gymnastics, community health agent (CHA), training.

## INTRODUÇÃO

Os distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho (DORT) são danos decorrentes da utilização excessiva imposta ao sistema musculoesquelético e da falta de tempo para recuperação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002). Para a prevenção

e tratamento desses distúrbios é fundamental a ginástica laboral (GL) que consiste em alongamentos realizados antes e após o trabalho. A prática regular de exercícios físicos juntamente com a GL produz grandes vantagens a longo, médio e curto prazo. Tais condutas não são de exclusividade médica, é desejável a participação de outros profissionais de saúde, tais como fisioterapeuta, terapeuta ocupacional, enfermeiro, ACS, terapeuta corporal, com domínio de técnicas diversificadas para se obter a efetividade no tratamento (FERREIRA, K., 2013). Dessa forma, nosso Projeto Terapêutico Singular (PTS) objetiva analisar a prevalência de DORT e capacitar as ACS sobre a importância da GL para prevenção de DORT e assim desempenhar promoção de saúde e prevenção de doenças por toda área 28 da unidade André Luís em Patos de Minas- MG.

## **METODOLOGIA**

Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo e transversal realizado na área 28 da Unidade Básica de Saúde (UBS) André Luís em Patos de Minas-MG com capacitação sobre GL na prevenção de DORT para ACS. Foi aplicado um questionário (Tabela 1) elaborado pelos autores e respondido por 06 ACS's no dia 23/08/2017. Após o levantamento de dados preparamos uma palestra, ministrada no dia 20/09/2017 com linguagem acessível sobre DORT enfatizando de um modo geral as principais queixas dos pacientes e como seria possível a prevenção de tais patologias. Em seguida, realizamos a GL demonstrando todos os alongamentos que podem ajudar na prevenção de DORT. Ainda, distribuimos alguns flyers autoexplicativos com exercícios para prevenção de DORT e dicas de postura correta para as Atividades de Vida Diária (AVD).

<b>1. Você sabe o que é Doença Osteomuscular Relacionada ao Trabalho (DORT)?</b>
<b>2. Você sabe quais são os principais sintomas das DORT?</b>
<b>3. Você sabe quais são os fatores de risco para DORT?</b>
<b>4. Você sabe qual a prevenção de DORT?</b>
<b>5. Quantas famílias você acompanha?</b>
<b>6. Das famílias que você visita pelo menos quantas apresentam DORT?</b>
<b>7. Quais são as DORT's mais prevalentes na sua microárea?</b>
<b>8. Quais são as queixas mais frequentes dentre as famílias que você visita?</b>
<b>9. Nos últimos 6 meses qual foi o número de consultas solicitadas devido às queixas da questão anterior?</b>

Tabela 1. Questionário aplicado às ACS no dia 23/08/2017

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A partir dos resultados 67% das ACS consideram ter um bom conhecimento

sobre DORT e 57% relatam saber os sintomas, fatores de risco e prevenção. Além disso, as ACS visitam um total de 1463 famílias e dentre essas 33% das ACS têm entre 21 e 30 famílias com DORT e 67% têm mais de 41 famílias com DORT, dado em concordância com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) que comprava alta prevalência de DORT na região Sudeste de 2007 a 2013 com 11028 casos. As DORT's mais prevalentes foram tendinites (33%), síndrome do túnel do carpo (30%) e bursites (29%) e os sintomas mais frequentes foram dor nas costas (23%), dor nas pernas (18%), dor nos joelhos (18%), dor no ombro (17%). Isso justifica a maior demanda por consultas relacionadas a esses sintomas, sendo mais de seis consultas em 83% das respostas pelas ACS. As ACS que participaram da palestra estavam motivadas durante a apresentação e avaliaram o encontro como positivo e esclarecedor. A participação delas foi ativa durante as explicações e inclusive apresentaram situações para serem aplicadas nos grupos operativos os quais elas participam.

## CONCLUSÃO

Nota-se alta prevalência de DORT na área 28, além disso, essa constitui um importante problema de saúde pública, e a principal forma de combatê-la é realizando a promoção e prevenção dessas doenças. Além dos benefícios fisiológicos, traz benefícios psicológicos. E ainda, contribuem para o decréscimo de 52% na procura ambulatorial (VIEGAS, L., ALMEIDA, M., 2016). Além disso, apesar dos resultados mostrarem que as ACS relataram como conhecedoras de DORT, durante a palestra notamos um grande interesse sobre o que estava sendo proposto e elas avaliaram ter aprendido muita coisa que elas desconheciam. Dessa forma, este trabalho busca atuar na capacitação em GL para ACS, já que essa contribui para diminuir as consequências da DORT. Tendo em vista que não é possível remover os fatores de risco que colaboram para o desenvolvimento de desta, aplicam-se ações que pelo menos possa atenuar os efeitos desses fatores. Nesse sentido, entende-se que este projeto beneficia não só as ACS, mas todos os moradores desta área de Patos de Minas, além de atingir todos os níveis de prevenção em saúde. Com o presente trabalho, elas tiveram maior informação e capacitação. Assim, podemos garantir um maior acesso a informação para garantir qualidade para a saúde dos usuários da UBS.

## REFERÊNCIAS

BRASIL, Ministério da Saúde. **Caderno de Atenção Básica da Saúde do Trabalhador**- Número 5, Brasília 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo de Atenção Integral à Saúde do Trabalhador**. Disponível em [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo\\_ler\\_dort.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_ler_dort.pdf)

FERREIRA, Karina da Silva. **Os benefícios da ginástica laboral e os possíveis motivos da não implementação**. Revista Educação Física UNIFAFIB, Ano II, n.2, p.56-72, Bebedouro 2013.

VIEGAS, LOUISE; ALMEIDA, MILENA. **Perfil epidemiológico dos casos de LER/DORT entre trabalhadores da indústria no Brasil no período de 2007 a 2013**. Rev Bras Saude Ocup 2016;41:e22

## ACCURACY OF ULTRASOUND FOR DETECTING LIVER METASTASIS XENOGRAFTS IN NUDE MICE

Data de aceite: 19/11/2018

### **Caroline Corrêa de Tullio Augusto Roque**

Omega Imagem veterinária, Brasil  
Santos - SP

### **Eduardo Nóbrega Pereira Lima**

AC Camargo Cancer Center, Brasil  
São Paulo-SP

### **Rubens Chojniak**

AC Camargo Cancer Center, Brasil  
São Paulo-SP

### **Bruno de Tullio Augusto Roque Lima**

Qualittas, Brasil  
Santos - SP

### **Tiago Goss dos Santos**

AC Camargo Cancer Center, Brasil  
São Paulo-SP

**ABSTRACT:** Nude mice are the usual animal model for studying orthotopically implanted human tumors, and ultrasound imaging has emerged as a viable method for measuring tumors implanted orthotopically. The aim of this study was to evaluate ultrasound findings of liver tumors implanted into mice using a 13-MHz transducer and to correlate these findings with gross pathology and histological examinations. Tumor samples from liver metastases were obtained surgically from patients, and 1-mm<sup>3</sup>

fragments were implanted into the liver parenchyma of 38 nude mice. Mice were imaged monthly by ultrasound until sacrifice. Of the 38 mice implanted with tumor fragments, 11 developed tumors. Ultrasound detected nodular lesions in the 11 macroscopically positive animals and was able to identify the features of the engrafted tumors. Ultrasound imaging is a viable and noninvasive method for evaluating the liver parenchyma of nude mice, and showed 100% sensitivity and specificity in detecting and characterizing lesions.

**KEYWORDS:** Ultrasound; nude mice; preclinical model; liver metastasis; orthotopic xenograft.

### ACURÁCIA DA ULTRASSONOGRRAFIA NA DETECÇÃO DE METÁSTASES HEPÁTICAS DE XENOTRANSPLANTES EM CAMUNDONGOS NUDES

**RESUMO:** Os camundongos nudes são frequentemente utilizados em estudos relacionados à implantes ortotópicos. A ultrassonografia emergiu como um método viável na mensuração dos tumores implantados ortotopicamente. O objetivo desse estudo foi avaliar os achados ultrassonográficos de tumores hepáticos implantados em camundongos usando um transdutor de 13 MHz e correlacionar esses

achados com os achados macroscópicos e exames histológicos. As amostras tumorais de metástases hepáticas foram obtidas cirurgicamente de pacientes, e fragmentos de 1 mm<sup>3</sup> foram implantados no parênquima hepático de 38 camundongos nudes. Os animais foram avaliados mensalmente através da ultrassonografia, até o momento da eutanásia dos mesmos. Dos 38 camundongos implantados, 11 desenvolveram o tumor. A ultrassonografia detectou lesões nodulares nos 11 animais macroscopicamente positivos e foi capaz de identificar as características dos tumores enxertados. Este trabalho demonstrou que a ultrassonografia é um método viável e não invasivo para avaliar o parênquima hepático de camundongos nudes, apresentando sensibilidade e especificidade de 100% na detecção e caracterização das lesões.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ultrassom; camundongo nude; modelo pré-clínico; metástase hepática; xenoenxerto ortotópico.

## 1 | INTRODUCTION

Metastasis is the leading cause of cancer mortality. The liver is a frequent metastatic site for melanoma, colon, and breast cancer and therefore an important area of metastasis research. Patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) in nude mice are the gold standard in preclinical cancer biology and tumor response to new drugs studies, and are uniquely suited for metastasis research. The use of preclinical models is essential in every aspect of translational cancer research, ranging from the biological understanding of the disease to the development of new treatments (Hidalgo, 2014). The rationale for developing patient-derived tumor xenograft (PDX) models is the expectation that these models will retain key characteristics of the donor tumor that will be maintained through successive mouse-to-mouse passages in vivo (Hidalgo, 2014). Nude mice make ideal hosts for tumor cell lines, because they have a mutation of the *Foxn1* gene leading to an athymic state, and thus exhibit depletion of CD4 and CD8 T cells and impaired T and B cell function (Oh, Hong, Lee, & Cho, 2017). Moreover, the orthotopic transplantation model is the most similar to human cancer in terms of histology, vascularity, gene expression, and the metastatic process. Thus, this model is able to develop metastasis and is superior to subcutaneous (ectopic) transplantation (Oh *et al.*, 2017; Kubota, 1994; Hoffman, 1999; Hoffman, 2015; Murakami *et al.*, 2016). However, the difficulty in tracking the progression of metastases through time due to the lack of noninvasive longitudinal imaging methods has limited their utility (Graham *et al.*, 2005).

Ultrasound imaging boasts excellent soft tissue contrast without the use of exogenous contrast agents or radiopharmaceuticals and offers considerably higher throughput than computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), positron emission tomography (PET), and bioluminescent imaging systems (Ayers

*et al.*, 2010). In addition to being noninvasive and inexpensive, ultrasound does not require the use of ionizing radiation or special facilities, making it possible to perform serial examinations without injury or discomfort to the animal. Before the 1990s, ultrasound studies were limited primarily to larger animals, such as dogs, pigs, sheep, primates, and calves (Tanaka *et al.*, 1996). In 1995, researchers pioneered the use of high-frequency ultrasound imaging or ultrasound biomicroscopy (UBM) in translational research for analyzing early mouse mutant phenotypes in utero (Turnbull, Bloomfield, Foster, & Joyner, 1995). In 1999, researchers used high frequency (40 MHz) ultrasound imaging for monitoring apoptosis, and in 1996 another authors demonstrated the first application of UBM for studying mouse melanoma progression (Czarnota *et al.*, 1999; Turnbull *et al.*, 1996). Different studies demonstrated use of three-dimensional high-frequency ultrasound to track the growth of liver metastases produced by mesenteric vein injection of B16F1, PAP2, HT-29, and MDA-MB-435/ HAL cells in experimental mouse models. In those studies, ultrasound imaging proved highly sensitive to small metastases with a minimum detection size of 0.22 mm (Cheung *et al.*, 2005; Graham *et al.*, 2005).

Despite all its advantages, the use of high-frequency ultrasound has been limited by its high costs. Thus, conventional ultrasound, which is routinely used in most diagnostic centers, emerges as a yet unexplored, alternative, noninvasive imaging method to detect liver nodules in nude mice. Also, there is currently a lack of comparative studies using conventional ultrasound to detect liver metastases in this animal model. Thus, this study aimed to assess the feasibility of using ultrasound to detect liver tumors implanted in immunodeficient mice, evaluating the sensitivity and specificity of ultrasound for detecting liver tumors implanted in immunodeficient mice with a 13-MHz linear transducer, and comparing gross pathology and histologic findings with ultrasound images. Given the lack of operators trained in performing the procedure in mice, no interobserver study was conducted. The implantation of tumor fragments from colorectal cancer patients directly into the liver of nude mice mimicked the clinical pattern of metastasis.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

This is an experimental pilot study involving translational research. The nature of this research is qualitative, because the interpretation by the researcher and his opinions about the phenomenon under study was extremely important, corroborating with Pereira *et al.* (2018).

## Animal model

This study employed 42 male and female Balb/c nude mice (Charles River), 8-16 week old and weighing approximately 20 g, and did not involve experimentation on genetically modified animals. Mice were kept in a specific pathogen-free (SPF) facility throughout the experimental period and tested periodically for specific pathogens. Mice were housed in microisolators controlled for temperature (22 °C) with a 12-h light/dark cycle and provided autoclaved water and irradiated rodent diet *ad libitum*. The use of animals in the research was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee at AC Camargo Cancer Center (reference number 065/14A).

## Patients and tumor sample collection

The patients selected for this prospective study fulfilled the following inclusion criteria: colorectal cancer with liver metastasis confirmed by core needle biopsy with indication for lateral segmentectomy. Patients signed the informed consent form and were operated on by the Abdominal Surgery team at A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil. Six patients were included in the study; all had received chemotherapy treatment. This study was approved by the Institutional Review Board at Antonio Prudente Foundation (number 1950/14). After collection, tumor samples from hepatic metastasis were transferred to plastic tubes containing culture medium (DMEM; Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) supplemented with fetal bovine serum and transported to the animal facility in a closed vial inside a container packed with ice to keep temperature low. Mice were implanted with tumor fragments within 1 h after tumor collection.

## Tumor inoculation

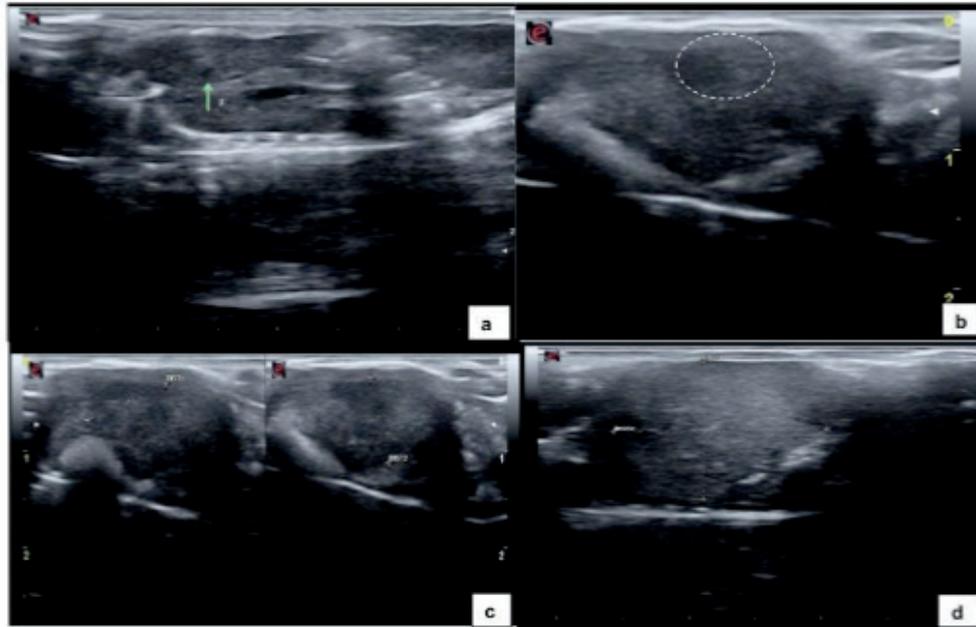
Tumor samples were cut into 1-2 mm<sup>3</sup> pieces and each animal had one tumor fragment implanted into the left lobe of the liver parenchyma. Mice were anesthetized with an injection of ketamine/xylazine (100 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine). Following tumor implantation, mice received subcutaneous analgesia with tramadol (5 mg/kg) and were monitored under infrared light until complete recovery from anesthesia. Tumor growth was evaluated monthly and tumor burden was assessed when signs of apathy, weight loss, dehydration, and increased abdominal volume were observed. Mouse livers containing tumor xenografts were processed for histological and immunohistochemical analysis.

## Ultrasound imaging

Ultrasound imaging data were collected using a MyLab™ Gamma portable

ultrasound system (Esaote Healthcare do Brasil, São Paulo, SP, Brazil). The linear transducer model SL1543, operates between 4 and 13 MHz with maximum of 50-mm focal depth for accurate evaluation of murine liver parenchyma. In this study, the transducer was operated at 13 MHz and mice were noninvasively imaged at about 30-day intervals based on the time to tumor progression of implanted tumors (43-294 days).

1. Mice were kept anesthetized with an intraperitoneal injection of 100 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine;
2. Mice were placed in a laminar flow hood over a sterile surgical dressing, positioned in dorsal recumbancy, parallel and to the right of the ultrasound system so that the right side of the body remained closer to the operator;
3. Ultrasound contact gel (~ 10 mm in height) was applied to the abdomen at room temperature ( $22 \pm 2$  °C);
4. The transducer was initially positioned parallel to the dorsal plane of the mouse with the ultrasound probe directed to the skull. Next, overview images of the liver parenchyma were acquired from left to right in the sagittal plane;
5. After finishing the scanning described above, the transducer was positioned transversely to the D-V axis with the probe directed to the right side of the animal and further imaging of the entire parenchyma was obtained in the cranio-caudal (C-C) orientation;
6. Images ranged in appearance from small areas, slightly hypoechoic (Fig. 1a) relative to the surrounding liver parenchyma, with indistinguishable borders identified as scar tissue, to solid, homogeneous hypoechoic mass (Fig. 1b; 1c) and solid, heterogeneous hypoechoic masses with distinct, irregular borders identified as tumors (Fig. 1d);
7. Mice were classified as positive (presence of one or more liver tumors) or negative (absence of nodular images) as assessed by ultrasound imaging. The number and location of xenograft tumors were not considered;
8. The length (cranio-caudal diameter along the longitudinal axis of the liver) and height (dorsal-ventral diameter along the longitudinal axis of the liver) of each xenograft tumor were measured to the nearest mm.



**Fig. 1.** (A) Ultrasound image of liver parenchyma showing a small, homogeneous hypoechoic nodule within the liver parenchyma measuring 1.2 mm in length along the longitudinal axis (green arrow). (B) Homogeneously hypoechoic nodule (dashed oval), distinct borders measuring 4.8mm. (C) Heterogeneously hypoechoic nodule measuring 12 mm × 8.2 mm (green arrow). (D) Heterogeneously hyperechoic nodule occupying a large portion of the liver parenchyma (dashed oval), measuring 17.1 mm in length along the longitudinal axis (diameter 2).

## Euthanasia

Mice with liver tumors detected on ultrasound imaging, mice housed in the same microisolator cage as at least one tumor-bearing mouse diagnosed on ultrasound, mice with clinical signs of apathy or dehydration, and those housed for a period exceeding one year were euthanized. Mice were euthanized with an overdose of ketamine/xylazine sufficient to produce respiratory depression and death.

## Histopathology

At necropsy, the livers were removed and assessed for macroscopically visible tumors and results compared with ultrasound findings. On gross pathology, a small whitish area identified as scar tissue was visualized at the site of implantation in livers that appeared as non-nodular, slightly hypoechoic areas on ultrasound images. All tumors appearing as solid masses on ultrasound images were also solid on gross pathology. Next, liver sections were stained by hematoxylin and eosin (H&E) and examined by two experienced pathologists (Drs. Maria Dirlei Begnani and Patrícia Peresi) for histologic confirmation of colorectal cancer.

## Statistical Analysis

Data were analyzed using contingency tables to test for correlations between macroscopic findings and ultrasound imaging data.

### 3 | RESULTS

#### Population survival

Of the 42 mice implanted with colorectal tumor fragments, four died from complications of anesthesia induction related to refractory hypotension and hypothermia immediately after implantation of orthotopic xenografts, and 38 mice survived and were included in the study.

#### Tumors identified in the sample

Gross pathology and histologic sections revealed that 11 (28.9%) of the 38 mice developed liver tumors (Table 1).

			Gross pathology		Total
			Negative	Positive	
US detection	Negative	<b>N</b>	27	0	27
		% US detection	100.0%	0.0%	100.0%
		% gross pathology	100.0%	0.0%	71.1%
	Positive	<b>N</b>	0	11	11
		% US detection	0.0%	100.0%	100.0%
		% gross pathology	0.0%	100.0%	28.9%
Total		<b>N</b>	27	11	38
		% US detection	71.1%	28.9%	100.0%
		% gross pathology	100.0%	100.0%	100.0%

Table 1. Contingency table of ultrasound and gross pathology findings.

US: ultrasound

#### Gross pathology

Of the 38 living mice, only 11 (28.9%) exhibited one or more macroscopically visible liver tumors and 27 (71.1%) were negative for liver tumors on gross pathology (Table 1). On gross pathology, liver tumors appeared as either diffuse (Fig.2a), multifocal (Fig. 2 b), or solitary lesions at the site of implantation (Fig. 2c).

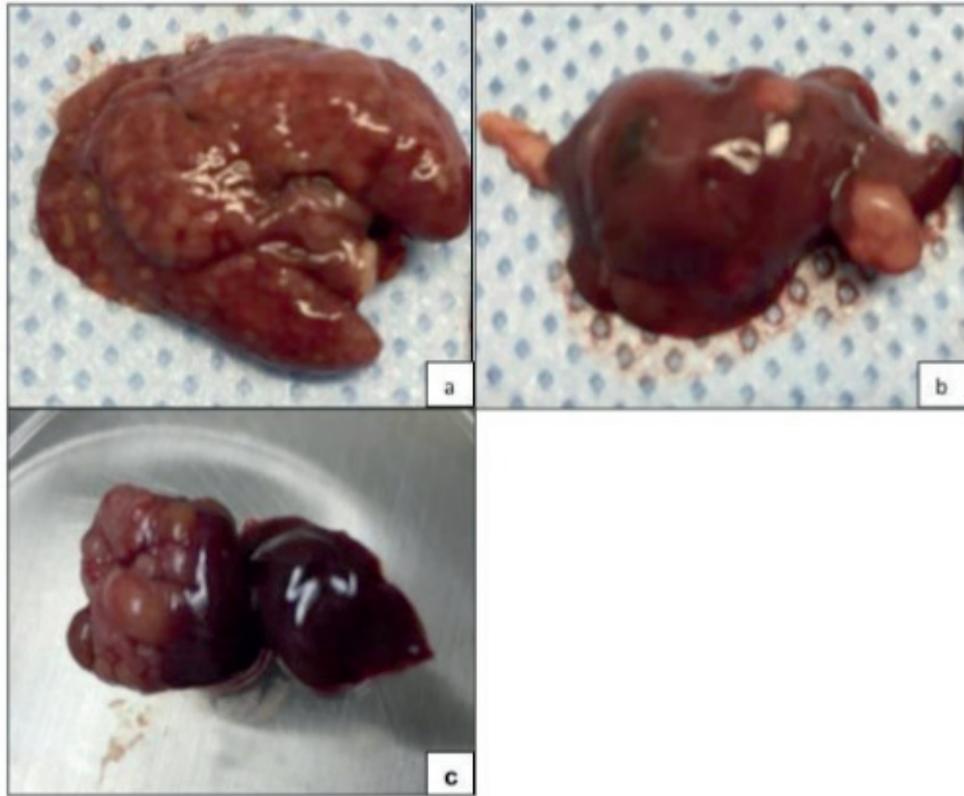


Fig. 2. Explanted gross specimens reveal morphologically distinct hepatic lesions, indicated by tissue discoloration: (A) diffuse, (B) multifocal, and (C) solitary lesions.

### Histological findings

Of the 38 liver samples sent for H&E staining, 11 (28.9%) were positive for colorectal cancer as a result of tumor growth post-implantation and 27 (71.1%) were histologically negative for tumor cells (Table 1).

### Ultrasonographic findings

Ultrasound imaging was obtained from 38 mice, of which 19 (50%) had a homogeneous and normoechoic liver parenchyma and no tumors on gross pathological examination and histologic sections (Fig. 3). In the remaining 19 mice (50%), at least one nodule measuring between 1.2 mm and 17.1 mm in diameter along its longitudinal axis was detected by ultrasound. Liver nodule appeared as:

- a. Small hypoechoic structure measuring  $<3$  mm with homogeneous echotexture visualized in the left lobe of the liver in eight histologically negative mice and consistent with scar tissue. These findings, measuring up to 2.8 mm along the longitudinal axis (cranio-caudal diameter), showed no morphological evolution on serial ultrasound imaging and are consistent with scar tissue.
- b. Nodule measuring  $>3$  mm visualized in 11 histologically positive mice, of which: eight appeared as hypoechoic images measuring  $>3$  mm with slightly coarse echotexture and defined borders; three appeared as predominantly

hypoechoic images measuring >10 mm with heterogeneous echotexture and small, sparse pin-point hyperechoic areas (probably representing mineralization), and distinct irregular borders.

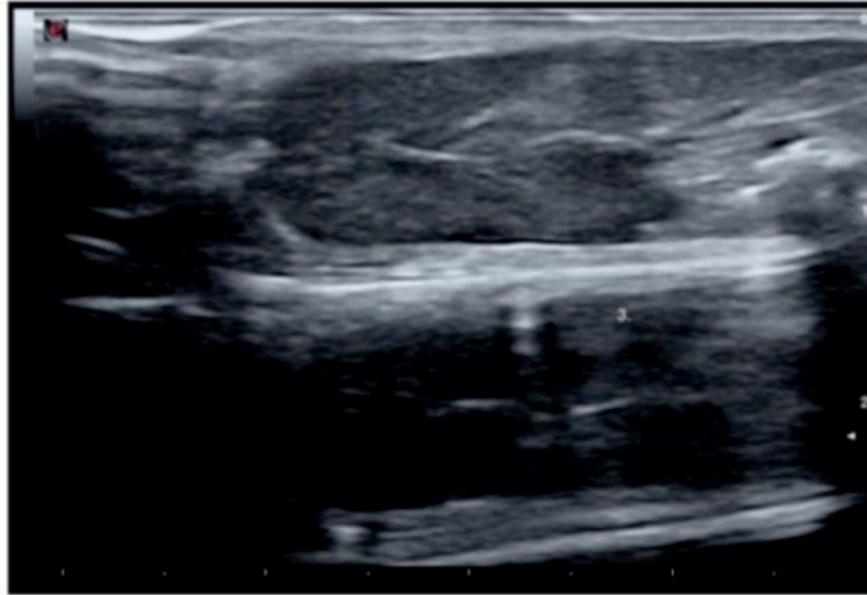


Fig. 3. Ultrasound image of a homogeneous and normoechoic liver parenchyma.

## Dimensions

Ultrasound findings measuring up to 2.8 mm along the longitudinal axis (cranio-caudal diameter) consistent with scar tissue and without volume changes on serial ultrasound imaging were detected in eight mice, whereas solid masses measuring >3 mm with progressive growth were visualized in 11 mice.

The measurements for maximum tumor diameter of solitary tumors and multiple tumors within the same liver (mean: 6.97 mm, median: 4.90 mm) obtained from ultrasound images are listed in Table 2.

Mouse	mm	Mouse	mm	Mouse	mm	Mouse	mm
1	1.3	6	2.4	11	5.0	16	12.8
2	1.4	7	2.6	12	10.5	17	14.2
3	1.4	8	2.8	13	10.9	18	14.2
4	1.5	9	3.1	14	12.0	19	17.1
5	2.2	10	4.9	15	12.3		

Table 2. Measurements for the longest tumor diameter obtained from ultrasound images.

## Tumor growth time

Tumor growth times after surgical implantation of patient-derived xenografts

ranged from 43 to 294 days due to the heterogeneity of tumor fragments.

## Accuracy

The ability of ultrasound to detect true positives among individuals with liver tumors was 100%.

The ability of ultrasound to identify true negatives among truly healthy mice was 100%. Of the 27 mice negative for colorectal cancer on gross pathological examination, 19 were identified as negative because no liver tumors were detected in ultrasound images, and eight mice with non-nodular, hypoechoic images measuring <3 mm with homogeneous echotexture and indistinguishable borders at the site of implantation were identified as negative for cancer by ultrasound imaging.

There was 100% agreement between positive cases detected by gross pathology and ultrasound imaging. The proportion of healthy mice (negative on gross pathology) among those negative on ultrasound was 100% (Table 1).

## Clinical pathological characteristics

In this work, we aimed to establish orthotopic xenografts from six patients with metastatic colorectal cancer. The clinical pathological characteristics at the time of tumor implantation are shown in Table 3.

Patient number	Gender	Age at surgery	Primary diagnosis	Previous treatment
1	female	50	Colorectal carcinoma with mutated KRAS	1 <sup>st</sup> -FOLFOX 2 <sup>nd</sup> -FOLFOX + Bevacizumab 3 <sup>rd</sup> -FOLFIRI + Bevacizumab
2	male	67	Colorectal carcinoma wild-type KRAS	1 <sup>st</sup> -FOLFIRI + Cetuximab 2 <sup>nd</sup> -DEBIRI 3 <sup>rd</sup> -FOLFIRI + Avastin
3	male	68	Colorectal carcinoma and hepatocarcinoma	1 <sup>nd</sup> -FOLFOX + Bevacizumab 2 <sup>nd</sup> -FOLFIRI + Bevacizumab
4	male	41	Colorectal carcinoma wild-type KRAS	1 <sup>st</sup> -FLOX+ Bevacizumab 2 <sup>nd</sup> -FOLFIRI
5	female	51	Colorectal carcinoma	1 <sup>st</sup> -FOLFOX+percutaneous RFA 2 <sup>nd</sup> -FOLFIRI+ Bevacizumab
6	male	74	Colorectal carcinoma	1 <sup>st</sup> -FOLFOX

Table 3. Patient characteristics at the time of tumor implantation.

FOLFOX = 5-fluoracil + oxaliplatin; FOLFIRI = 5-fluoracil + irinotecan; FLOX = leucovorin + 5-fluoracil + oxaliplatin; DEBIRI = chemoembolization with irinotecan; RFA = radiofrequency ablation.

## Success rate per patient sample

The number of mice per patient sample ranged from three to 10, and implantation success rates per tumor sample confirmed by gross pathology and histologic sections ranged from 0-100% (Table 4). This variation in success rates among patients was

due to the genetic heterogeneity of implanted human tumors. Tumor fragments were obtained surgically from patients who had completed at least one chemotherapy cycle and had the highest rates of necrosis, fibrosis, calcifications, and inflammatory infiltrates.

Patient	Animal	Implantation success rate (%) per patient	Ultrasound		Gross pathology	
			Positive	Negative	Positive	Negative
Patient 1	Mouse 1	100%	X		X	
	Mouse 2		X		X	
	Mouse 3		X		X	
	Mouse 4		X		X	
Patient 2	Mouse 1*	20%		X		X
	Mouse 2*			X		X
	Mouse 3			X		X
	Mouse 4		X		X	
	Mouse 5		X		X	
	Mouse 6			X		X
	Mouse 7			X		X
	Mouse 8*			X		X
	Mouse 9			X		X
	Mouse 10			X		X
Patient 3	Mouse 1	0%		X		X
	Mouse 2			X		X
	Mouse 3*			X		X
	Mouse 4			X		X
	Mouse 5*			X		X
	Mouse 6*			X		X
	Mouse 7*			X		X
Patient 4	Mouse 1	0%		X		X
	Mouse 2			X		X
	Mouse 3			X		X
	Mouse 4			X		X
	Mouse 5			X		X
Patient 5	Mouse 1*	56%		X		X
	Mouse 2			X		X
	Mouse 3			X		X
	Mouse 4			X		X
	Mouse 5		X		X	
	Mouse 6		X		X	
	Mouse 7		X		X	
	Mouse 8		X		X	
	Mouse 9		X		X	
Patient 6	Mouse 1	0%		X		X
	Mouse 2			X		X
	Mouse 3			X		X

Table 4. Number of mice per patient sample and respective tumor implantation success rates.

\*Mice with non-nodular areas at the implantation site on ultrasound images consistent with scar tissue.

## 4 | DISCUSSION AND CONCLUSION

In this study, we used a PDOX model (implantation of tumor fragments from colorectal cancer patients directly into the liver of nude mice) to evaluate the accuracy of 13-MHz ultrasound for detecting liver tumors that mimic the clinical pattern of metastasis, as the tumor microenvironment at the site of implantation recapitulates the human tumor microenvironment (i.e., the liver). Comparison with gross pathological and histological analyses indicates that ultrasound had 100% sensitivity and specificity in detecting and characterizing nodular lesions in murine liver parenchyma.

A study that used high-frequency (40 MHz) ultrasound to track the growth of murine liver metastases following orthotopic injection of tumor cell lines showed that ultrasound imaging was highly sensitive to metastasis (Graham *et al.*, 2005). Similarly, in our study ultrasound imaging showed 100% sensitivity and specificity to detect liver tumors. High frequency (40-60 MHz) transducers have been widely used in mouse studies due to their low penetration depth (range 1-2 cm) and high spatial resolution. Here, a 13-MHz transducer proved capable of mapping liver tumors in mice, contingent on the expertise of a well-trained and skilled operator. A report that a 10-MHz transducer could image only to a depth of 3-4 cm (Coatney, 2001).

The number of mice implanted with tumor fragments ranged from 3-10 per patient, with the viability of tumor cells affecting xenograft success. Tumor implants were generated based on the gross features of the sample by removing areas of friable tissue with a scalpel. However, tumor cells were not microscopically assessed for freezing damage immediately after surgical resection, which could have reduced the number of xenograft failures and increase tumor growth rates. This variation in tumor growth rates can be explained by tumor heterogeneity. In the context of tumor biology, metastatic tissue can exhibit varying degrees of cellularity, necrosis, and fibrosis according to histological type and molecular profile. In the current study, all mice housed in the same microisolator cage were killed and analyzed when the presence of a tumor was verified by ultrasound imaging in at least one animal. This was similar to the procedure adopted in 2005, who also killed the mice once suspected metastases were detected by ultrasound, to minimize false negatives and improve the accuracy of ultrasound (Graham *et al.*, 2005). Gross pathology revealed the presence of liver tumors in 11 mice, later confirmed in histologic sections. In eight mice, ultrasound findings measuring <3 mm in their largest dimension (cranio-caudal axis of the mouse) were identified by ultrasound as scar tissue at the site of implantation. Because no areas of scar tissue exceeded 3 mm in diameter on serial ultrasound imaging, a cut-off value of 3 mm for scar tissue can be tested in larger series. Liver tumors detected by ultrasound were serially followed to track tumor

growth in all mice and were verified by gross pathology and histologic sections, indicating that ultrasound imaging was highly sensitive. In the remaining mice identified as tumor-free by ultrasound imaging, the liver parenchyma showed normal echotexture and echogenicity or appeared as homogeneously hypoechoic nodule at the site of implantation that showed no progression on serial ultrasound imaging, and these findings were later verified by gross pathology and histologic sections. A single ultrasound examination is not capable of discriminating between scar tissue and early stage tumors because of their ultrasonographic features. Thus, ultrasound imaging only provides a highly accurate and sensitive means to assess liver tumors when mice are serially imaged.

The implantation of tumor fragments into the liver parenchyma of nude mice leads to hypotension intensifying the hypotensive effects of anesthesia. The four deaths during the experimental period were attributed to severe hypotension caused by the implantation of the tumor fragment into the liver parenchyma combined with the known hypotensive effects of the alpha-2 adrenergic agonist, xylazine.

This study had some limitations: there was no interobserver analysis, due to the unavailability of operators trained in performing the procedure in mice. In mice with multifocal lesion, a comparative analysis was not performed between each tumor detected by ultrasonography and gross pathology. In addition, all patients had completed at least one chemotherapy cycle before surgery, resulting in large areas of fibrotic and necrotic tissue in the tumor sample and adversely affecting the development of liver tumors in the mouse.

The need to develop models that can be used for studies on personalized treatments allowed various groups to lay the groundwork for experimental metastasis models over the last five decades. In the October 2014 issue of *Science*, in the section 'On the Cover', it was stated: "To make mice better mirrors of human cancer, researchers are building 'avatars' with the cancer of a particular patient," underscoring the relevance of this type of mouse model in the current scenario (Frankel, 2014). Ultrasound imaging is a viable and noninvasive method for studying the liver parenchyma of nude mice. In this study, ultrasound showed 100% sensitivity and specificity in detecting and characterizing nodular lesions in murine liver parenchyma.

## **CONFLICT OF INTEREST STATEMENT**

None.

## REFERENCES

- 1-Ayers GD, McKinley ET, Zhao P, et al. (2010). Volume of preclinical xenograft tumors is more accurately assessed by ultrasound imaging than manual caliper measurements. *J Ultrasound Med.* 29(6):891-901.
- 2-Cheung AM, Brown AS, Hastie LA, et al. (2005). Three-dimensional ultrasound biomicroscopy for xenograft growth analysis. *Ultrasound Med Biol.* 31(6):865-870.
- 3-Coatney RW. (2001). Ultrasound imaging: principles and applications in rodent research. *ILAR J.* 42(2):233-247.
- 4-Czarnota GJ, Kolios MC, Abrahan J, et al. (1999). Ultrasound imaging of apoptosis: high-resolution non-invasive monitoring of programmed cell death in vitro, in situ and in vivo. *Br J Cancer.* 81(3):520-527.
- 5-Frankel, J.C. (2014). The littlest patient. *Science.* 346(6205):24-27.
- 6-Graham KC, Wirtzfeld LA, MacKenzie LT, et al. (2005). Three-dimensional high-frequency ultrasound imaging for longitudinal evaluation of liver metastases in preclinical models. *Cancer Res.* 65(12):5231-5237.
- 7-Hidalgo M, Amant F, Biankin AV et al. (2014). Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discov.* 4(9):998-1013.
- 8-Hoffman RM. (1999). Orthotopic metastatic mouse models for anticancer drug discovery and evaluation: a bridge to the clinic. *Invest New Drugs.* 17(4):343-359.
- 9-Hoffman RM. (2015). Patient-derived orthotopic xenografts: better mimic of metastasis than subcutaneous xenografts. *Nat Rev Cancer.* 15(8):451-452.
- 10-Kubota T. (1994). Metastatic models of human cancer xenografted in the nude mouse: the importance of orthotopic transplantation. *J Cell Biochem.* 56(1):4-8.
- 11-Murakami T, Zhang Y, Wang X, et al. (2016). Orthotopic implantation of intact tumor tissue leads to metastasis of OCM-2MD3 human gastric cancer in nude mice visualized in real time by intravital fluorescence imaging. *Anticancer Res.* 36(5):2125-2130.
- 12-Oh, B.Y.; Hong, H.K., Lee, W.Y. & Cho, Y.B. (2017). Animal models of colorectal cancer with liver metastasis. *Cancer Lett.* 387:114-120.
- 13-Pereira, A.S.; Shitsuka, D.M.; Parreira, F.J. & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Ed. UAB/NTE/UFMS, Santa Maria/RS. Available from: [http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1)
- 14-Tanaka N, Dalton N, Mao L, et al. (1996). Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. *Circulation.* 94(5):1109-1117.
- 15-Turnbull, D.H., Bloomfield, T.S., Foster, F.S. & Joyner, A.L. (1995). Ultrasound backscatter microscope analysis of early mouse embryonic brain development. *Proc Natl Acad Sci.* 92:2239-2243.
- 16-Turnbull DH, Ramsay JA, Shivji GS, et al. (1996). Ultrasound backscatter microscope analysis of mouse melanoma progression. *Ultrasound Med Biol.* 22(7):845-853.

## ESTIMULAÇÃO DO CRESCIMENTO DE CÉLULAS NERVOSAS UTILIZANDO *Rosmarinus officinalis* (ALECRIM)

Data de aceite: 19/11/2018

Caruaru, Pernambuco.

### **Eliza Wedja Santos de Sales**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Ducivânia da Silva Tenório**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Jamicelly Rayanna Gomes da Silva**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Maria Eduarda Silva Amorim**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Camilla Isabella Ferreira Silva**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Stéphanie Camilla Vasconcelos Tavares**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Nayane Monalys Silva de Lima**

Centro Universitário Tabosa de Almeida

Caruaru, Pernambuco.

### **Aline de Moura Borba**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

### **Victória Júlya Alves de Albuquerque**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Joanne Cordeiro de Lima Couto**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Cynthia Gisele de Oliveira Coimbra**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

### **Risonildo Pereira Cordeiro**

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA)

Caruaru, Pernambuco.

**RESUMO:** **Introdução:** O Fator de Crescimento Neural (NGF), demonstra sua atividade na proliferação e diferenciação de neurônios e por ajudar o reparo e recuperação funcional de nervos injuriados. Combinado com biomateriais e com liberação controlada, seu efeito pode ser aumentado. Em estudos clínicos, confirmou-se a capacidade do NGF de ajudar na recuperação funcional após lesão. Estudos em animais sugerem que o fator de crescimento neural pode atenuar ou

retardar a progressão de atrofia do prosencéfalo basal colinérgico relacionado com a Doença de Alzheimer (DA). **Objetivos:** Realizar uma síntese na literatura acerca do Fator de Crescimento Nervoso e sua estimulação com o *Rosmarinus officinalis*. **Metodologia:** Realizou-se uma revisão de literatura nas bases de dados: Science Direct, Portal CAPES e Google Acadêmico, utilizando os termos descritores, Fator de Crescimento Nervoso, estimulação neuronal e *Rosmarinus officinalis*, publicados entre 1987 a 2019. **Desenvolvimento:** Pesquisas demonstraram que o extrato de *Rosmarinus officinalis* possuem atividade na síntese de NGF, estimulando assim o crescimento neuronal. Seus constituintes que podem apresentar tal ação incluem o ácido Carnósico, carnosol e o ácido rosmarínico, estudos comprovam sua atividade no bom funcionamento do Sistema Nervoso Central. **Conclusão:** Em estudos recentes foi comprovada que o ácido Carnósico e o carnosol, são moléculas capazes de promover a síntese aumentada de NGF em células do glioblastoma. **PALAVRAS-CHAVE:** Fator de Crescimento Neuronal, Estimulação neuronal, *Rosmarinus officinalis*.

#### NERVOUS CELL GROWTH STIMULATION USING *Rosmarinus officinalis* (ALECRIM)

**ABSTRACT: Introduction:** The Neural Growth Factor (NGF), demonstrates its activity in the proliferation and differentiation of neurons and for helping the repair and functional recovery of injured nerves. Combined with biomaterials and controlled release, their effect can be increased. In clinical studies, NGF's ability to assist in functional recovery after injury has been confirmed. Animal studies suggest that neural growth factor may attenuate or slow the progression of cholinergic basal forebrain atrophies related to Alzheimer's Disease (AD). **Objectives:** To perform a synthesis in the literature about the Nervous Growth Factor and its stimulation with *Rosmarinus officinalis*. **Methodology:** A literature review was performed on the databases: Science Direct, CAPES Portal and Google Scholar, using the descriptive terms Nervous Growth Factor, neuronal stimulation and *Rosmarinus officinalis*, published between 1987 and 2019. **Development:** Research has shown that *Rosmarinus officinalis* extract has activity in NGF synthesis, thus stimulating neuronal growth. Its constituents that may have such action include Carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid, studies prove their activity in the proper functioning of the Central Nervous System. **Conclusion:** Recent studies have shown that Carnosic acid and carnosol are molecules capable of promoting increased NGF synthesis in glioblastoma cells.

**KEYWORDS:** Neuronal Growth Factor, Neuronal Stimulation, *Rosmarinus officinalis*.

## 1 | INTRODUÇÃO

As doenças neurológicas constituem uma carga crescente no sistema de saúde, no entanto, há escassez mundial de informações sobre os recursos para o atendimento de tais indivíduos. O Brasil é um país populoso, de extenso território e com nítido envelhecimento da população. Conseqüentemente, ocorre um incremento de muitas doenças crônico-degenerativas, dentre elas, diversas de natureza neurológica (GOMES, 2014).

Patologias neurológicas constituem as doenças do sistema nervoso central e periférico, que incluem desordens do cérebro, medula espinhal, nervos periféricos e da junção neuromuscular (COSTA, 2010). O tratamento dessas doenças envolve a identificação dos problemas e um planejamento de tratamento global por uma equipe multidisciplinar e entre as doenças mais comuns estão a Doença de Alzheimer (DA) e a Doença de Parkinson (DP).

A Doença de Alzheimer (DA) está relacionada ao declínio dos múltiplos domínios cognitivos, representados principalmente pela perda de memória, prejuízo na linguagem e no raciocínio, assim como pelo declínio na autonomia para tomar decisões e para completar tarefas (GITLIN; CORCORAN, 2005; PADILLA, 2011a). Ademais, também podem estar presentes sintomas neuropsiquiátricos e alterações comportamentais, tais como: depressão, ansiedade, agitação, apatia, alucinações, comportamentos motores inadequados, psicoses, mudanças na personalidade, na qualidade do sono, no apetite e na libido (MACHADO, 2011; CHAVES; PRADO; CAIXETA, 2012).

A Doença de Parkinson (DP), é uma das doenças neurológicas mais comuns e intrigantes atualmente. Possui distribuição universal e pode atingir quaisquer grupos étnicos e classes socioeconômicas. Estima-se uma prevalência de 100 a 200 casos por 100.000 habitantes. Sua incidência e prevalência aumentam com a idade. Suas principais manifestações motoras incluem tremor de repouso, bradicinesia, rigidez com roda dentada e anormalidades posturais. (Portaria SAS/MS 228, 2010)

A espécie *Romarinus officinalis* L. (conhecida popularmente como alecrim) é utilizado para fins medicinais na medicina popular no tratamento de dores de cabeça, epilepsia e doenças circulatórias. Também é conhecido como estimulante e um leve analgésico, costuma ser utilizado como antiespasmódico na cólica renal e na dismenorreia, age no alívio das perturbações respiratórias e para estimular o crescimento capilar (AL-SEREITI et al. 1999). Comprovado cientificamente, o alecrim é rico em polifenóis e flavonóides que possuem propriedades antioxidantes. Foram relatados múltiplos benefícios para o sistema neuronal, além de aliviar transtornos de humor. Experiências com animais mostraram que o alecrim pode exercer efeito antidepressivo como a fluoxetina (SASAKI et al, 2013).

Além disso, as folhas de alecrim mostraram uma variedade de bioatividades tais como função antioxidante, antitumoral, anti-HIV e anti-inflamatória. O extrato de alecrim relaxa os músculos lisos da traquéia e do intestino, e possui atividade colerética, hepatoprotetora e antitumoral. Os principais constituintes dessa espécie são compostos polifenólicos incluindo ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico e ácido ursólico. Seu potencial terapêutico tem sido usado no tratamento e prevenção da asma brônquica, distúrbios espasmogênicos, úlcera péptica, doenças inflamatórias, hepatotoxicidade, aterosclerose, cardiopatia isquêmica, catarata e câncer (AL-SEREITI et al., 1999).

Diante disso, este trabalho teve como objetivo levantar uma revisão de literatura através de diversos estudos com relação a propriedade da espécie *Rosmarinus officinalis* em estimular o crescimento de células nervosas, visto que, tal efeito fitoterápico poderá ser benéfico no tratamento de diversas doenças que atinjam os neurônios.

## 2 | METODOLOGIA

O vigente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica narrativa, com a finalidade de realizar um estudo retrospectivo através da literatura científica sobre a estimulação do crescimento de células neuronais pela ação da espécie *Rosmarinus officinalis* (alecrim). Foram analisados trabalhos científicos publicados nas bases de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO), Portal CAPES, Science Direct e Google Acadêmico, para filtrar a busca utilizaram-se as palavras-chave: Fator de Crescimento Neuronal, estimulação neuronal e *Rosmarinus officinalis*.

Esta revisão de literatura apresentou como critérios de inclusão artigos originais, revisões de literatura, dissertações e teses publicados em língua portuguesa e inglesa, no período de 1987 a 2019. Também foram incluídas publicações a respeito da espécie e seus compostos bioativos que apresentam correlação com o fator de crescimento nervoso. Como critério de exclusão, publicações que não apresentavam relevância para o presente estudo.

## 3 | DESENVOLVIMENTO:

### 3.1 Doenças neurodegenerativas

As doenças neurodegenerativas são caracterizadas por morte neuronal excessiva e prematura do sistema nervoso, afetando a substância cinzenta do cérebro e, secundariamente, as funções ligadas à substância branca, o que resulta

em atrofia focal das regiões afetadas do cérebro (ROPPER et al., 2014). As principais Doenças Neurodegenerativas são:

### *Doença de Alzheimer (DA):*

A doença de Alzheimer é a patologia neurodegenerativa mais frequente, onde a mesma está associada à idade, afetando aproximadamente 10% dos indivíduos com idade superior a 65 anos e 40% acima de 80 anos. Possui manifestações cognitivas e neuropsiquiátricas como alteração da memória, atenção, concentração, linguagem e pensamento que resultam em uma deficiência progressiva (JANUS; WESTAWAY, 2001).

### *Doença de Parkinson (DP)*

Doença neurodegenerativa de maior incidência depois da doença de Alzheimer, acometendo cerca de 1% a 2 % da população acima de 65 anos (DE RIJK; TZOURIO; BRETELER, 1997 apud NAKABAYASHI, 2008). A doença de Parkinson está associada à degeneração dos neurônios que consiste numa diminuição nas reservas de dopamina na substância negra, com uma conseqüente despigmentação desta estrutura, causando alteração crônica e progressiva do sistema nervoso, caracterizada pelos sinais cardinais de rigidez, acinesia, bradicinesia, tremor e instabilidade postural (O´SULLIVAN; SHIMITZ, 2004).

### *Esclerose Múltipla (EM)*

A doença Esclerose Múltipla é responsável pela destruição da mielina (desmielinização), proteína fundamental na transmissão do impulso nervoso, considerada uma enfermidade inflamatória, provavelmente auto-imune, a suscetibilidade genética e a influência ambiental talvez sejam responsáveis pelo aparecimento dos primeiros surtos. No entanto, há ainda muitas perguntas sem respostas, especialmente quanto aos mecanismos básicos da doença (ADAMS; VICTOR, 1989). Segundo Callegaro et al (1994), o Brasil é considerado um país apresenta baixa prevalência a doença, a estimativa da cidade de São Paulo é de aproximadamente 5/100.000 habitantes. Entretanto, os estudos na América Latina apontam para taxas de prevalência entre 4 a 12/100.000 (POSER, 1994).

### *Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA)*

A Doença Esclerose Lateral Amiotrófica é caracterizada por perda de neurônios

motores no córtex, tronco cerebral, e medula espinhal, causando debilidade e atrofia progressiva da musculatura respiratória e dos membros, espasticidade, distúrbios do sono, estresse psicossocial e sintomas de origem bulbar como disartria e disfagia, podendo resultar em morte ou ventilação mecânica permanente (FRANCIS; BACH; DELISA, 1999). A ELA é responsável por 66% dos pacientes com doenças do neurônio motor, sendo mais comum nos homens idosos (NORRIS et al., 1993).

### *Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB)*

A doença Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), normalmente conhecida como “doença da vaca louca” é fatal e transmissível do sistema nervoso central (SNC) de bovinos, com um longo período de incubação (média de 5 anos), caracterizada clinicamente por nervosismo, reação exagerada a estímulos externos e dificuldade de locomoção. A (EEB) foi diagnosticada pela primeira vez em 1986 na Europa (ANDERSON et al., 1996; WELLS et al., 1987). Causadas por um agente chamado príon (PrP<sup>Sc</sup>), uma proteína de conformação espacial alterada e com potencial infeccioso (PRUSINER et al., 1982).

A (EEB) tem como principais características clínicas alterações comportamentais, hipersensibilidade aos sons e toques e a apreensão (BRAUN et al., 1998), podendo variar de acordo com a região cerebral afetada (SAEGERMAN et al., 2004). Estudos epidemiológicos desenvolvidos após o aparecimento dos primeiros casos de EEB apontaram como principal fonte de transmissão por meio da ingestão de alimentos contendo proteínas e gordura animal contaminadas (farinha de carne e ossos, etc.) (WILESMITH et al., 1988).

### *Doença de Huntington (DH)*

A doença de Huntington (DH) é uma doença genética neurodegenerativa transmitida por herança autossômica dominante com penetrância completa. Sua gênese está na repetição exagerada do trinucleotídeo CAG no braço curto do cromossomo 4 (WALKER, 2007). Causada pela mutação no gene de uma proteína que todos possuímos, a huntingtina. A DH é caracterizada pela perda de coordenação motora, alterações psiquiátricas, declínio cognitivo e demência progressiva. Os sintomas psiquiátricos, como agitação, sintomas depressivos, maníacos, delírios e alucinações, podem ocorrer em até 50% dos casos antes das manifestações neurológicas (BONELI; HOFMANN, 2004).

## Doença Batten's (DB)

A Lipofuscinose ceróide neuronal, conhecida também como doença de Batten apresenta um padrão de herança autossômica recessiva que causa a perda de função da proteína chamada *CLN3* acarreta no acúmulo lisossômico de lipofuscina no tecido do corpo, levando a morte de neurônios neocorticais (PELTONEN; SAVUKOSKI; VESA, 2000). Os sintomas clínicos são: cegueira, degeneração psicomotora progressiva, demência e epilepsia.

A apoptose é de grande importância para o desenvolvimento do Sistema Nervoso Central, promovendo a eliminação celular natural. Algumas doenças como Doença de Alzheimer (DA), Doença de Parkinson (DP), Doença de Huntington (DH) e Doença Batten's (DB) estão associadas à perda excessiva de populações neuronais específicas nas doenças neurodegenerativas (KAJTA, 2004). Os cérebros dos indivíduos acometidos apresentam uma elevada expressão de proteínas que estão associadas à Apoptose e à fragmentos do DNA (JELLINGER; STADELMANN, 2001).

### 3.2 Formas de atenuar o processo neurodegenerativo

Entre as principais doenças neurodegenerativas pode-se citar a Doença de Parkinson, a principal forma de tratamento é a utilização de fármacos que promovam a reposição da dopamina, molécula altamente reativa produzida pelos neurônios que compõem o mesencéfalo. A reposição da dopamina é realizada através da administração da 3,4-dihidroxifenilalanina, mais conhecida como L-DOPA, este fármaco tem como base restaurar a atividade dopaminérgica para melhorar a mobilidade funcional, aumentando a qualidade de vida dos pacientes com esta doença neurodegenerativa (PAIXÃO et al., 2013).

A reabilitação cognitiva tem por objetivo capacitar os pacientes a conviver, lidar, contornar, reduzir ou superar as deficiências cognitivas resultantes da lesão neurológica, a prioridade da maioria das intervenções propostas é estabelecer o uso mais eficiente da memória (CALIMAN; OLIVEIRA, 2007). Na Doença de Alzheimer utilizam-se algumas estratégias de aprendizagem ou técnicas mnemônicas que referem-se a formas de aprimorar o armazenamento, codificação e/ou a evocação de informações aprendidas. Algumas destas técnicas são consideradas eficazes para pacientes com Doença de Alzheimer (BOTTINO et al., 2002).

Na busca de alternativas mais saudáveis, a fitoterapia também pode ser uma escolha terapêutica para essas doenças neurodegenerativas, podendo oferecer vários benefícios, evitando efeitos adversos causados por medicamentos. Pesquisas realizadas comprovaram que *Rosmarinus officinalis* vem sendo uma espécie muito usada na alimentação. A planta possui atividade antioxidante, por

ser rico em carnosol e ácido carnósico está também envolvida na síntese do fator de crescimento neuronal, fator que é necessário ao crescimento e manutenção do tecido nervoso (SANTANA; DOURADO; BIESKI, 2018).

Outros estudos realizados em algumas plantas medicinais, foram confirmados resultados positivos do extrato de Ginkgo biloba para prevenção e tratamento de doença de Alzheimer. Esta planta contém princípios ativos que causam o aumento do suprimento sanguíneo cerebral por vasodilatação e redução da viscosidade do sangue, sendo assim capaz de reduzir os radicais livres no tecido nervoso (ENGELHARDT, et al., 2005).

### 3.3 Estimulantes do desenvolvimento cerebral

Desenvolvimento cerebral é a forma lúdica de se referir ao processo de desenvolvimento e amadurecimento do sistema nervoso central (SNC). Esse processo perpassa por inúmeros pontos críticos. A completa maturação do cérebro, principalmente do córtex pré-frontal, é estipulada de ocorrer por volta dos 20 anos de vida (JÚNIOR, 2018). Durante muito tempo, acreditou-se que o SNC, após seu desenvolvimento, tornava-se uma estrutura rígida, que não poderia ser modificada, e que lesões nele seriam permanentes, pois suas células não poderiam ser reconstituídas ou reorganizadas (OLIVEIRA, 2001).

Hoje, sabe-se que o SNC tem grande adaptabilidade e que, mesmo no cérebro adulto, há evidências de plasticidade na tentativa de regeneração/modificação das suas propriedades morfológicas e funcionais em resposta às alterações do ambiente (STEIN, 1955).

A trajetória do desenvolvimento está atrelada também à carga genética, porém grande parte da influência sobre o desenvolvimento cerebral deriva do ambiente que se foi exposto durante os períodos críticos do crescimento. Durante o processo de aprendizagem, há modificações nas estruturas e funcionamento das células neurais e de suas conexões, ou seja, o aprendizado promove modificações plásticas, como crescimento de novas terminações e botões sinápticos, crescimento de espículas dendríticas, aumento das áreas sinápticas funcionais, estreitamento da fenda sináptica, mudanças de conformação de proteínas receptoras, incremento de neurotransmissores (ARNSTEIN, 1997).

Modificações dos níveis de neurotransmissores e de neuroreceptores dentro das vias de comunicação cerebral são importante delimitadores do funcionamento do cérebro. Os níveis de dopamina, serotonina e outros transmissores são afetados pelas experiências da primeira infância, e podem interferir no estabelecimento e quantidade de sinalizações geradas pelos neurônios (CASPI et al., 2002). Alguns estudos colocam em evidência a capacidade da serotonina aumentar a neurogênese

através dos receptores 5-HT<sub>1a</sub> que, curiosamente, estão concentrados, em grande parte, no giro denteado do hipocampo (GONÇALVES, 2006).

Pesquisas têm evidenciado resultados benéficos com a prática regular da atividade física, referentes às funções cognitivas e à capacidade funcional em idosos com demência. Martelli (2013), relata que a influência de atividades de lazer e físicas na redução da perda cognitiva ocorrem pelo estímulo da neurogênese e da sinaptogênese produzida por fatores neurotróficos, que teriam sua produção aumentada durante a prática regular dos exercícios e a possível ampliação da reserva cognitiva, que ocorreria particularmente em idosos com manutenção de atividades com maior estímulo cognitivo por longo período.

### 3.4 Composição química da espécie *Rosmarinus officinalis*

A grande maioria dos estudos científicos envolvendo a espécie *Rosmarinus officinalis*, em sua maioria, apresentam dados acerca de suas folhas, visto que é a parte da planta mais utilizada pela população. O extrato aquoso das folhas de alecrim possui em sua composição química ácido clorogênico, ácido caféico, ácido rosmarínico, rutina, quercetina, kaempferol, apigenina e ácido carnósico (ROCHA et al., 2017). O ácido carnósico é uma molécula antioxidante bioativa do alecrim que auxilia no bom funcionamento do sistema nervoso. Esta molécula é capaz de inibir a degradação da acetilcolina, um neurotransmissor importante para a concentração e memória (KOSAKA; YOKI, 2003).

Wang et al. (2012) descreveram que a administração de ácido rosmarínico promove efeitos de neuroreparação contra neurotoxicidade induzida por oxidopamina (composto de referência capaz de induzir neurotoxicidade em cobaias), tal resultado é apontado devido às propriedades antioxidantes, antiapoptóticas e anti-inflamatórias pertencentes a esse composto oriundo da espécie. Pesquisadores comprovaram que o alecrim ocasiona efeito depressor em receptores do SNC, os compostos fitoquímicos apontados por tais atividades nesta espécie são o ácido carnósico, carnosol, alfa-pineno, ácido betulínico, ácido ursólico e ácido rosmarínico presente na espécie (MACHADO et al., 2013).

No extrato etanólico da espécie *Rosmarinus officinalis* é possível encontrar ácido clorogênico, ácido cafeico, rutina, ácido rosmarínico, querceina, kaempferol e ácido carnósico (AMARAL et al., 2013). Outras substâncias em menor quantidade também são identificadas como constituintes da planta, a exemplo de  $\beta$ -sitosterol, colina, ácido glicólico, ácido glicérico, ácido nicotínico, ácido ascórbico (vitamina C), carotenoides, clorofilas, taninos, saponinas, álcool perílico e flavonoides (ANGIONI et al., 2004).

As atividades biológicas do alecrim são relacionadas, principalmente, aos constituintes fenólicos e voláteis presentes majoritariamente no óleo essencial da

planta. Entretanto, componentes de menor teor, como o nopineno e a verbenona, podem também ter uma potencial influência sobre a atividade da espécie no SNC devido à possibilidade de efeito sinérgico entre seus constituintes (CELIK TAS et al., 2007).

### 3.5 Estudos utilizando *Rosmarinus officinalis* em distúrbios do sistema nervoso

A espécie *Rosmarinus officinalis* é utilizada para diversos fins medicinais, um destes é a aromaterapia com seu óleo essencial, o qual é capaz de melhorar significativamente o desempenho cognitivo e o humor dos pacientes (MOSS et al., 2003). No México, esta espécie é utilizada tradicionalmente para dores de cabeça e epilepsia, já na Espanha, como sedativo, relaxante e para quadros depressivos (HEINRICH et al., 2006). O alecrim é uma erva promissora para melhora da memória e para tratamento de déficits cognitivos, tal efeito é associado às suas propriedades anticolinesterásicas (DUKE, 2007; INGOLE et al., 2008; KENNEDY; SCHOLEY, 2006; SINGH et al., 2011).

Pesquisadores encontraram que o óleo essencial das folhas de alecrim, injetado intraperitonealmente em camundongos aproximadamente meia hora antes de treinamentos durante o período de 5 dias, ocasionou melhora da memória para os animais que estavam com déficit de atenção induzido (HOSSEINZADEH et al., 2004). Além disso, em estudos com idosos, esta espécie foi capaz de aumentar a função cognitiva (PENGELLY et al., 2012). Park et al. (2010) documentaram o efeito neuroprotetor do extrato oriundo das folhas de alecrim sob células dopaminérgicas humanas do tipo SH-SY5Y. O extrato desta espécie possui potencial em servir como agente preventivo de diversas patologias de caráter neurodegenerativo ocasionadas por estresse oxidativo e consequente apoptose neuronal, como sugeriu a pesquisa.

Em relação a sua atividade sedativa e ansiolítica, Machado et al. (2012) documentaram em seu estudo que o extrato hidroalcoólico das folhas de alecrim (10mg/kg, via oral) possui ação semelhante à ocasionada pelo antidepressivo fluoxetina (medicamento antidepressivo da classe dos Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina). Este estudo apontou ainda que o extrato reverte o comportamento depressivo dos indivíduos sem alterar a aprendizagem.

Além disso, pesquisas realizadas por Legay (2000) comunicaram que o óleo essencial de alecrim inibe a atividade da enzima acetilcolinesterase. Tal enzima é capaz de hidrolisar fisiologicamente a acetilcolina ativa em moléculas de colina nas junções neuromusculares, garantindo assim, que a sinalização neuronal seja rapidamente completada. Quando o óleo essencial desta planta foi utilizado, houve inibição da atividade da enzima, disponibilizando assim mais moléculas de acetilcolina na fenda sináptica e proporcionando melhora da memória, aprendizado e sono nos envolvidos no teste.

### 3.6 *Rosmarinus officinalis* em estimulação do crescimento neuronal:

Durante o desenvolvimento do sistema nervoso, os neurônios crescem e projetam seus axônios (ramificações pelas quais os impulsos nervosos são conduzidos) ao longo de um caminho bem definido. E nessa complexidade da regeneração nervosa, está envolvida uma gama de elementos que interagem entre si, todos fundamentais ao processo; dentre eles, os fatores de crescimento (FC) despertam grande interesse da comunidade científica, por sua atuação como importantes moduladores celulares (BOYD; GORDON, 2003; JIN; MAO, 2000).

Os nervos periféricos degenerados são uma fonte importante destes fatores, assim como as células de Schwann (CS). Esses fatores de crescimento são basicamente um conjunto de três famílias de moléculas e seus receptores, responsáveis por manter o crescimento e a sobrevivência dos axônios, neurônios motores e sensitivos após danos teciduais (BOYD; GORDON, 2003). A presença local dos FC é importante no controle da sobrevivência, migração, proliferação e diferenciação de vários tipos celulares que estão engajados no reparo de nervos (GORDON; FU, 1997).

Dentre os fatores neurotróficos, o fator de crescimento neural (do inglês, *nerve growth factor* – NGF) é o fator mais pesquisado, devido à sua ação na proliferação e diferenciação de neurônios (PETRUSKA; MENDELL, 2004) e por auxiliar o reparo e a recuperação funcional de nervos injuriados (APFEL et al., 1998). Quando combinado com biomateriais e com liberação controlada, seu efeito pode ser potencializado (XU-XY et al., 2002; LEE et al., 2003). Em estudos experimentais confirmou-se a capacidade do NGF de promover a recuperação funcional após lesão (SUN W et al., 2009).

As atividades biológicas da espécie *Rosmarinus officinalis* com ação no sistema nervoso têm sido relacionadas com os seus compostos fenólicos e os seus constituintes voláteis (BABOVIC et al., 2010; ARRANZ et al., 2015), tais como o carnosol, ácido carnósico e ácido rosmarínico presente nos extratos, e o  $\alpha$ -pineno, acetato de bornilo, cânfora e 1,8-cineol presentes no óleo essencial desta planta (BABOVIC et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2013).

O beta-cariofileno (BCP) é um sesquiterpeno bicíclico presente em diferentes concentrações nos óleos essenciais de diferentes espécies vegetais, dentre elas o alecrim. Estudos como o de Cheng et al. (2014) e Ojha et al. (2016) demonstraram os efeitos neuroprotetor, antioxidante e anti-inflamatório do BCP em modelos de Parkinson e Alzheimer, respectivamente. Essas atividades foram evidenciadas por meio da atenuação do estresse oxidativo, inibição da peroxidação lipídica e redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, bem como de mediadores inflamatórios. Esta molécula também possui características capazes de induzir efeitos

que o tornam um potencial candidato ao tratamento/prevenção dos processos envolvidos na neurodegeneração, apresentando efeitos benéficos em modelos celulares de Parkinson, Huntington e Alzheimer para estudos de neurotoxicidade (FERREIRA, 2014).

Kosaka e Yokoi (2003) testaram o efeito do extrato das folhas de *Rosmarinus officinalis* sobre células de glioblastoma humanas (T98G), observando aumento na síntese de NGF, sendo este vital para o crescimento e manutenção funcional do tecido nervoso. Hosseinzadeh e Nourbaksh (2003) induziram a dependência química por morfina em camundongos e testaram a inibição da síndrome da retirada (Sintomas mentais e físicos que ocorrem após a interrupção ou diminuição no consumo de uma substância que causa dependência) utilizando extrato hidroalcoólico de *R. officinalis* após administração de Naloxona, observando diminuição da síndrome.

Gonzales et al. (2005), realizaram experimento em camundongos, onde houve indução de cistite intersticial empregando LPS (lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*) com posterior cultura das células da bexiga. Como resultado do estudo, observaram aumento na produção do fator de crescimento de nervo (NGF), de TNF-alfa e da substância P.

#### 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a pesquisa na literatura, evidenciou-se que o *Rosmarinus officinalis*, com suas substâncias ácido Carnósico e o carnosol, atuam diretamente estimulando o crescimento de células neuronais e auxilia a retardar e prevenir doenças neurodegenerativas.

#### REFERÊNCIAS

ADAMS, R. D.; VICTOR M. **Principles of Neurology**. 4th Ed. Health Professions Division, New York, McGraw-Hill international editions, 1989.

AL-SEREITI, M. R.; ABU-AMER, K. M.; SEN, P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 37, n. 2, p. 124–130, 1999.

AMARAL, G. P.; et al. Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 48-55, 2013.

ANDERSON, R.M.; DONNELLY, C.A.; FERGUSON, N.M.; WOOLHOUSE, M.E.; WATT, C.J.; UDY, H.J.; MAWHINNEY, S.; DUNSTAN, S.P.; SOUTHWOOD, T.R.; WILESMITH, J.W.; RYAN, J.B.; HOINVILLE, L.J.; HILLERTON, J.E.; AUSTIN, A.R.; WELLS, G.A. Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. **Nature**, v.382, p.779788, 1996.

ANGIONI, A. et al. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Agricultural and Food**

**Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3530-3535, 2004.

APFEL, SC.; KESSLER, JA.; ADORNATO, BT.; LITCHY, WJ.; SANDERS, C.; RASK CA. Recombinant human nerve growth factor in the treatment of diabetic polyneuropathy. NGF Study Group. **Neurology**. v. 51, n. 3, p. 695-702, 1998.

ARNSTEIN, P.M. The neuroplastic phenomenon: a physiologic link between chronic pain and learning. **J Neurosc Nurs**, v.29, n. 3, p.179-86, 1997.

BABOVIC, N.; DJILAS, S.; JADRANIN, M.; VAJS, V.; IVANOVIC, J.; PETROVIC, S. Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v.11, n. 1, p. 98-107,2010.

BONELI, R. M.; HOFMANN P. A review of the treatment options for Huntington's disease. **Expert Opin Pharmacother**, n. 5, p. 767 - 776, 2004.

BOTTINO, C. M. C., et al. Reabilitação cognitiva em pacientes com doença de Alzheimer: relato de trabalho em equipe multidisciplinar. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 60, n. 1, p. 70-9, 2002.

BOYD, JG.; GORDON, T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. **Mol Neurobiol**. v. 27, n. 3, p. 277-324, 2003.

BRAUN, U.; PUSTERLA, N.; SCHICKER, E. Bovine spongiform encephalopathy: diagnostic approach and clinical findings. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.20, p.270278, 1998.

CALIMAN, G. T.; DE OLIVEIRA, R. M. W. Novas perspectivas no tratamento da doença de Alzheimer. **Iniciação científica CESUMAR**, v. 7, n. 2, p. 141-162, 2007.

CASPI, A. et al. Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children. **Science**, v. 297, n. 5582, p. 851-854, 2002.

CELIK TAS, O. Y.; HAMES, E. E.; BEDIR, E.; FAZILET, V.; OZEK, T.; BASER, K. H. C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 553-559, 2007.

CHAVES, M.; PRADO, C.; CAIXETA, L. Tratamento dos sintomas psicológicos e comportamentais da doença de Alzheimer. In: CAIXETA, L. et al. Doença e Alzheimer. Porto Alegre: Artmed, 2012. p. 407-416.

CHENG, Y. et al.  $\beta$ -Caryophyllene ameliorates the Alzheimer-like phenotype in APP/PS1 Mice through CB2 receptor activation and the PPAR $\gamma$  pathway. **Pharmacology**, v. 94, n. 1, p. 1-12, 2014.

COSTA, I. et al. Terapia Nutricional em Doenças Neurológicas. Revisão de Literatura. **Rev Neurocienc**. v. 18, n.4, p. 555-560, 2010.

DUKE, J. A farmácia do jardim. Alecrim, a erva da lembrança da doença de Alzheimer. **Terapias alternativas e complementares**, v. 13, p. 287 - 290, 2007.

ENGELHARDT, E. et al. Tratamento da doença de alzheimer: recomendações e sugestões do Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. **Arq. Neuro-Psiquiatr**. v. 63, n.4, 2005.

FERREIRA, D. A. S. **Avaliação do efeito protetor do  $\beta$ -cariofileno em modelos celulares de doenças neurodegenerativas**. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

- FRANCIS, K.; BACH, JR.; DELISA, JA. Evaluation and rehabilitation of patients with adult motor neuron disease. **Arch Phys Med Rehabil**, n. 80, p. 951 - 963, 1999.
- GITLIN, L. N.; CORCORAN, M. A. Occupational Therapy and Dementia care. Bethesda: AOTA Press, 2005.
- GOMES, M. da M. Neurology in Brazil: geodemographic considerations. **Rev Bras Neurol**. v. 50, n. 4, p. 83-7, 2014.
- GONÇALVES, F.A.; COELHO, R. Depressão e tratamento: apoptose, neuroplasticidade e antidepressivos. **Acta Med Port**, v. 19, n. 9, p. 20, 2006.
- GORDON, T.; FU SY. Long-term response to nerve injury. **Adv Neurol**. v. 72, p. 185-99, 1997.
- HEINRICH, M.; KUFER, J.; LEONTI, M. PARDO-DE-SANTAYANA, M. Ethnobotany and ethnopharmacology- Interdisciplinary links with the historical sciences. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 157-160, 2006.
- HOSSEINZADEH, H.; KARIMI, G. H.; NOUBAKHT, M. Efeitos do óleo essencial de partes aéreas de *Rosmarinus officinalis* L. na memória intacta e déficits de aprendizagem induzidos por escopolamina em ratos que executam a tarefa de labirinto de água de morris. **Journal of Medicinal Plants Fall**, v. 3, p. 68 - 76, 2004.
- HOSSEINZADEH, H.; NOURBAKHS, M. Effect *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts extract on morphine withdrawal syndrome in mice. **Phytother Res.**, v.17, n.8, p.938- 391, 2003.
- INGOLE, S.; RAJPUT, S.; SHARMA, S. Melhoradores da cognição: estratégias atuais e perspectivas futuras. **Pesquisa atual e informações sobre ciências farmacêuticas**, v. 9, p. 42 - 48, 2008.
- JANUS, C.; WESTAWAY, D. Transgenic mouse models of Alzheimer's disease. **Physiol Behav**, n. 73, p. 873 - 886, 2001.
- JELLINGER, K. A.; STADELMANN, C. Problems of cell death in neurodegeneration and Alzheimer's Disease. **J Alzheimers Dis**. n. 3, p. 31-40, 2001.
- JIN, KL.; MAO, XO.; GREENBERG DA. Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in in vitro ischemia. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 97, n. 18, p. 10242-7, 2000.
- JÚNIOR, A. P. M.; SILVA, B. A. B.; GOUVÊA, C. M. C. P. **Desenvolvimento cerebral de fetos e infantes em situações de negligência**. 2018. Minicurso - Universidade Federal de Alfenas (Unifal) Alfenas, MG, p. 1-15, 2018.
- KAJTA, M. Apoptosis in the central nervous system: Mechanisms and protective strategies. **Pol J Pharmacol**. n. 56, p. 689-700, 2004.
- KENNEDY, D. O.; SCHOLEY, A. B. A psicofarmacologia de ervas européias com propriedades que melhoram a cognição. **Atual Pharmaceutical Design**, v. 12 , p. 4613 - 4623, 2006.
- KOSAKA, K.; YOKOI, T. Carnosic acid, a component of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), promotes synthesis of nerve growth factor in T98G human glioblastoma cells. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 11, p. 1620-1622, 2003.
- LEE, AC.; YU, VM.; LOWE, JB.; 3RD.; BRENNER, MJ.; HUNTER, D.; MACKINNON SE, et al. Controlled release of nerve growth factor enhances sciatic nerve regeneration. **Exp Neurol**. v. 184, n. 1, p. 295-303, 2003.

LEGAY, C. Why so many forms of acetylcholinesterase?. **Microscopy research and technique**, v. 49, n. 1, p. 56-72, 2000.

MACHADO, D. G.; CUNHA, M. P.; NEIS, V. B.; BALEN, G. O.; COLLA, A. R.; GRANDO, J.; BROCARD, P. S.; BETTIO, L. E. B.; DALMARCO, J. B.; RIAL, D.; PREDIGER, R. D.; PIZZOLATTI, M. G.; RODRIGUES, A. L. S. *Rosmarinus officinalis* L. hydroalcoholic extract, similar to fluoxetine, reverses depressive-like behavior without altering learning deficit in olfactory bulbectomized mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 143, n. 1, p. 158-169, 2012.

MACHADO, D. G.; CUNHA, M. P.; NEIS, V. B.; BALEN, G. O.; COLLA, A.; BETTIO, L. E. B.; OLIVEIRA, A.; PAZINI, F. L.; DALMARCO, J. B.; SIMIONATTO, E. L.; PIZZOLATTI, M. G.; RODRIGUES, A. L. S. Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. **Food Chemistry**, v.136, n.2, p.999-1005, 2013.

MACHADO, J. C. Doença de Alzheimer. In: FREITAS, E. V.; PY, L. Tratado de Geriatria e Gerontologia. **Guanabara Koogan**. p. 178-214, 2011.

MARTELLI, A. Alterações cerebrais e os efeitos do exercício físico no melhoramento cognitivo dos portadores da doença de alzheimer. **Revista Saúde e Desenvolvimento Humano**, v. 1, n. 1, p. 49-60, 2013.

MOSS, M.; COOK, J.; WESNES, K.; DUCKETT, P. Aromas of Rosemary and Lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. **International Journal of Neuroscience**, v. 113, p. 15- 38, 2003.

NAKABAYASHI, T. I. K et al. Prevalência de depressão na Doença de Parkinson. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 35, n. 6, p. 219-27, 2008.

NORRIS, F.; SHEPHERD, R.; DENYS, EUK.; MUKAI, E.; ELIAS, L.; HOLDEN, D.; et al. natural history and outcome in idiopathic adult motor neuron disease. **J Neural Sci**, n. 118, p. 48 - 55.

O'SULLIVAN, S. B.; SCHIMITZ, T. J. **Doença de Parkinson**. Fisioterapia: avaliação e tratamento. São Paulo: Manole, p.747-73, 2004.

OJHA, S. et al.  $\beta$ -Caryophyllene, a phytocannabinoid attenuates oxidative stress, neuroinflammation, glial activation, and salvages dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson disease. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 418, n. 1, p. 59-70, 2016.

OLIVEIRA, C.E.N.; SALINA, M. E.; ANNUNCIATO, N. F. Fatores ambientais que influenciam a plasticidade do SNC. **Acta Fisiátrica**, v.8, n.1, p. 6-13, 2001.

PADILLA, R. Effectiveness of Occupational Therapy services for people with Alzheimer's disease and related dementias. **The American Journal of Occupational Therapy**, Bethesda, v. 65, n. 5, p. 487-489, 2011a.

PAIXÃO, A. O. et al. Doença de Parkinson: uma desordem neurodegenerativa. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT**, v. 1, n. 2, p. 57-65, 2013.

PARK, S. E.; KIM, S.; SAPKOTA, K.; KIM, S. J. Neuroprotective effect of *Rosmarinus officinalis* extract on human dopaminergic cell line, SH-SY5Y. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 30, n. 5, p. 759-767, 2010.

PELTONEN, L.; SAVUKOSKI, M.; VESA, J. Genetics of the neuronal ceroid lipofuscinoses. **Current opinion in genetics & development**, v. 10, n. 3, p. 299 - 305, 2000.

PENGELLY, A.; SNOW, J.; MILLS, SY.; SCHOLEY, A.; WESNES, K.; BUTLER, LR. Estudo de curto prazo sobre os efeitos do alecrim na função cognitiva em uma população idosa. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, p. 10 - 17, 2012.

- PETRUSKA, J.C.; MENDELL, L.M. The many functions of nerve growth factor: multiple actions on nociceptors. **Neurosci Lett.** v. 361, n. (1-3), p. 168-71, 2004.
- POSER, C. The epidemiology of Multiple Sclerosis: a general overview. **Ann Neurol**, n. 36, p. 180-193, 1994.
- PRUSINER, S.B.; GADJUSEK, D.C.; ALPERS, M.P. Kuru with incubation periods exceeding two decades. **Annals of Neurology**, v.12, p.19, 1982.
- RAŠKOVIĆ, A.; MILANOVIĆ, I.; PAVLOVIĆ, N.; et al. Antioxidant Activity of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Essential Oil and its Hepatoprotective Potential. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, p. 225, 2014.
- ROCHA, M. B.; BOLÍGON, A. A.; CAMPOS, M. M. A.; OLIVEIRA, L. F.; MACHADO, M. M. QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS DO EXTRATO AQUOSO DO ALECRIM (*ROSMARINUS OFFICINALIS* L.). **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 8, n. 2, 2017.
- SAEGERMAN, C.; SPEYBROECK, N.; ROELS, S.; VANOPDENBOSCH, E.; THIRY, E.; BERKVEN, D. Decision support tools for clinical diagnosis of disease in cows with suspected bovine spongiform encephalopathy. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, p.172178, 2004.
- SANTANA, J. D.; DOURADO, S. H. A.; BIESKI, I. G. C. Potencial das plantas medicinais no tratamento de doença de Alzheimer com ênfase em Cúrcuma longa. **Revista Saúde Viva Multidisciplinar da AJES**, v. 1, n. 1, 2018.
- SASAKI K. et al. *Rosmarinus officinalis* polyphenols produce anti-depressant like effect through monoaminergic and cholinergic functions modulation. **Behavioural Brain Research**. p. 86–94, 2013.
- SEBBEN, A. D.; LICHTENFELS, M.; SILVA, J. L. Regeneração de nervos periféricos: Terapia celular e fatores neurotróficos. **Rev Bras Ortop**, v. 46, n. 6, p. 643-9, 2011.
- SINGH, N.; PANDEY, B. R.; VERMA, P. Uma visão geral da abordagem fitoterapêutica na prevenção e tratamento da síndrome de Alzheimer e demência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas e Pesquisa de Medicamentos**, v. 3, p. 162 - 172, 2011.
- STEIN, D.G.; BRAILOWSKY, S. & WILL, B. Brain Repair. New York, **Oxford University Press**, v. 1, n. 1, p. 156, 1955.
- SUN, W.; SUN, C.; LIN H.; ZHAO, H.; WANG, J.; MA, H. et al. The effect of collagenbinding NGF-beta on the promotion of sciatic nerve regeneration in a rat sciatic nerve crush injury model. **Biomaterials**. v. 30, n. 27, p. 4649-56, 2009.
- TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; NENG, N. R.; NOGUEIRA, J. M. F. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**. v. 43, p. 587-595, 2013.
- WALKER, F. O. Huntington's disease. **Lancet**, v. 369, p. 218 - 228, 2007.
- WANG, W., et al. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. **Molecules**, v. 17, n. 3, p. 2704-2713, 2012.
- XU, XY.; YU, H.; GAO, SJ.; MAO, H.; LEONG, KW.; WANG S. Polyphosphoester microspheres for sustained release of biologically active nerve growth factor. **Biomaterials**. v. 23, n. 17, p. 3765–72, 2002.

## EFFECTS OF INTRA-ABDOMINAL PRESSURE IN RAT LUNG TISSUE AFTER PNEUMOPERITONEUM

*Data de aceite: 19/11/2018*

**Julio Cezar Mendes Brandão**  
**Itamar Souza Oliveira Junior**  
**Luiz Fernando Dos Reis Falcao**  
**David Ferez**  
**Masashi Munechika Masashi**  
**Luciana Cristina Teixeira**  
**Vanessa Coelho Gaspar**  
**Carla Andria Dato**

**ABSTRACT:** Background: Laparoscopic surgeries require pneumoperitoneum achieved by pressure-controlled insufflation with carbon dioxide into the peritoneal cavity. This condition changes the respiratory metabolism and promotes lung damage. Purpose: The aim of the present study was to compare the effect of different levels of intra-abdominal pressure (IAP) in a ventilated rat model with normal lungs. Methods: Forty-eight Wistar rats were selected at random and eight rats were assigned to each of following groups. The Sham group was subjected to a sham operation without pneumoperitoneum, the other groups were subjected to CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum with 5, 8, 10, 12 or 14 mmHg intra-abdominal pressure for 60 minutes. All animals were mechanically ventilated. At the end of the experiment, the

animals were euthanatized and had their lungs removed for analysis. Lipid peroxidation, myeloperoxidase activity, measurements of cytokines, and histopathological analysis were performed. Results: In the IAP5 group, all analyses were lower compared with those of other groups. TNF-alpha, IL-1 beta, IL-6, lipid peroxidation and myeloperoxidase activity were higher in groups IAP10, IAP12, and IAP14 compared with those of groups IAP5 and IAP8. These results were supported by histopathological examination. Conclusions: These findings suggest that high pressure increase oxidative stress and inflammatory induced lung damage after pneumoperitoneum. **KEYWORDS:** Laparoscopy; Experimental; Pneumoperitoneum; Cytokines; Oxidative Stress; Lung Injury

### INTRODUCTION

Laparoscopy is an important milestone in the era of modern surgery. It is a technique used in the diagnosis and treatment of a large number of specialties. It brings many advantages, but it also requires special care because of the transient physiologic changes promoted by the insufflation of gases in the

abdominal cavity [1-6].

Laparoscopic surgeries require pneumoperitoneum (PNP) usually achieved by pressure-controlled insufflation of carbon dioxide into the peritoneal cavity. In clinical practice, this gas is used with inflation pressures above 10 mmHg in adults. Although PNP is a complex event, it is well tolerated with a pathophysiological condition characterized by increased intra-abdominal pressure (IAP) with low perfusion in abdominal organs. Re-establishment of flow (reperfusion) occurs with deflation of the abdominal cavity with significant hemodynamic and respiratory effects, as well as specific changes in the intra-abdominal organs. This condition of “ischemia-reperfusion” (IR) leads to important effects such as hemodynamic, respiratory and oxidative stress. Thus the intra-abdominal pressure during laparoscopic surgery can cause injury, affecting local and distant tissues [7-10]. Despite the clear advantages of laparoscopic surgery in terms of patient outcome, increased intra-abdominal pressure (IAP) may give rise to significant organ ischemia in the splanchnic organs and even in remote organs such as lung [11]. This IR process leads to production of reactive oxygen species (ROS), and this can cause oxidative cell damage as well as activation of inflammatory mediators initiated immediately after reperfusion, which can last a few hours. [12-18].

In summary the intra-abdominal insufflation with CO<sub>2</sub> elevate the diaphragm and this condition increase the intrathoracic pressure following to decreasing respiratory system compliance associated with hypoxemia, atelectasis, edema and barotrauma [19,20]. The recruitment maneuvers for reduction at atelectasis area increase lung stress and these may be contributed to postoperative pulmonary dysfunction [21-24].

Based on the foregoing issues, we hypothesized that high IAP would promote more pulmonary lesions for increasing inflammatory cytokines and reactive oxygen species production in the lungs. The aim of this study was to evaluate the implications of PNP with different pressures levels of CO<sub>2</sub> and their effects on lung morphological and biochemical parameters.

## **MATERIALS AND METHODS**

All animal care and manipulations were approved by the Institutional Research Committee of the Federal University of São Paulo in accordance with the National Institute of Health (NIH) Guidelines Regarding Animal Experimentation and the guidelines of the 3R's (Council Directive 86/609/EEC and new limits for the use of animals in experiments by the European Parliament in 2010).

The experiment was performed in adult male Wistar albino rats (n= 8/group,

weighing 200-250 g; 3 to 4-months-old). The animals from the Federal University of São Paulo (UNIFESP, SP, Brazil) were housed in the vivarium under controlled temperature ( $\pm 22^{\circ}\text{C}$ ) and photoperiod (12-hour light/dark period) with free access to water and food. A 2-week acclimatization period was allowed before experimental manipulations were initiated. In order to avoid interference factors related to circadian rhythms, all studies were performed between 8 and 10 am.

### Anesthetic and Ventilatory Procedures

The rats were anesthetized with intramuscular (IM) injection of ketamine (40 mg/kg; Cetamin™, Syntec, Brazil) and xylazine (10 mg/kg; Anasedan™, Seva, Brazil), put in the supine position on a thermostatically regulated heating pad (36.7-37°C), and had the abdomen shaved and washed with 10% povidone iodine. Muscular relaxation was performed with IM injection of 2 mg/kg of neuromuscular blocking (Pancuron™, Cristália, Brazil) following tracheostomy (16G cannula) for mechanically ventilated (Inspira ASV, Harvard Apparatus, MA, United States) in volume-controlled ventilation mode with tidal volume (VT) of 6 mL/kg, respiratory rate (RR) of 70 incursions/min, PEEP of 5 cmH<sub>2</sub>O and inspired oxygen fraction ratio (FiO<sub>2</sub>) of 0.21, to maintain end-tidal CO<sub>2</sub> at 30-35 mmHg.

### Pneumoperitoneum

Animals were randomized using a specific program (random.org) and divided into 6 groups (n=8/group), using the three R's rules (Reduce, Reuse and Recycle), as follows: Sham: only angiocatheter (18-G cannula) positioned in the peritoneal cavity without insufflation (zero pressure); IAP5: intra-abdominal insufflation with 5 mmHg of CO<sub>2</sub>; IAP8: intra-abdominal insufflation with 8 mmHg of CO<sub>2</sub>; IAP10: intra-abdominal insufflation with 10 mmHg of CO<sub>2</sub>; IAP12: intra-abdominal insufflation with 12 mmHg of CO<sub>2</sub>; and IAP14: intra-abdominal insufflation with 14 mmHg of CO<sub>2</sub>. After the time of experiment and gradual decompression, the pH concentration in arterial blood gas were analyzed and the animals were euthanized using high anesthetic doses (1 mL/100 g of weight) of T-61 Euthanasia Solution (Hoechst & Roussel, USA).

The capnoperitoneum were performed for 60 minutes using an electronic laparoflator insufflator (Karl Storz GmbH, Germany). Immediately after euthanasia the thoracotomy was performed and the lungs were removed. The right lungs were divided: one part (right cranial lobe) was homogenized in ice-cold potassium chloride solution (1.5%, pH 7.4; Desruptor Ultrasonic, Thorton, Brazil) to yield a 10% (w/v), centrifuged (2.500 rpm for 10 min, at 4°C; VitchLab, DAIKI, Model DTR 16000, SP, Brazil), and supernatants were stored at -20°C until analysis. The biochemistry

analysis was performed using a spectrophotometer (Genesys™, Thermo Scientific, USA), whereas the other part was used for histological analysis.

### **Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) for Myeloperoxidase Activity (MPO), Malondialdehyde (MDA) and Cytokines**

The MPO activity and Malondialdehyde (MDA) were measured to evaluate oxidative stress and determined using an ELISA kit (Zen™ Myeloperoxidase ELISA Kit, Sigma-Aldrich, EUA) and using a OxiSelect™ MDA Adduct ELISA kit (Cell Biolabs, Inc., USA), all according manufacturer instructions.

ELISA kits specific for rats (TNF- $\alpha$  (KAP1751), IL-1 $\beta$  (KAP1211), and IL-6 (KAP1261), DiaSource, Belgium) were used to determine the concentrations of cytokines in tissue homogenates according to the manufacturer's recommendations.

### **Histological examination**

The other part of the lung (right caudal lobe) was dipped in 10% formalin, embedded in paraffin, and cut in sections of 4  $\mu$ m. The slides were stained with hematoxylin and eosin (H&E) and interpreted under optical microscope (Zeiss Axion Image A2™, Germany) for descriptive analysis conducted by two blinded pathologists. The damaged levels in these sections were described according to the extent of interstitial cellular infiltration, alveolar protein exudation, and tissue hemorrhage.

### **Statistical Analysis**

In this study, the mean (M)  $\pm$  standard deviation (SD) was used to analyze the data. The biochemistry data were compared using Graph Pad PRISM by one-way analysis of variance with Dunn's least significant difference test.  $P < 0.05$  was recognized to state the significant difference statistically.

## **RESULTS**

No animals were dead during of the experimental procedures. Acidosis was most observed in the group IAP14 ( $6.827 \pm 0.1464$ ) and were higher when compared with other groups ( $p < 0.05$ ). No differences were observed between Sham compared with IAP5 ( $7.29 \pm 0.045$ ) and IAP8 ( $7.281 \pm 0.029$ ), IAP5 with IAP8, IAP8 with IAP10 ( $7.11 \pm 0.057$ ), and IAP10 with IAP12 ( $7.01 \pm 0.051$ ).

In the Figures 1 to 5 show the average for the parameters analyzed: TNF-alpha, IL-1beta, IL-6, MDA, and MPO, respectively, as well as the results of histological analyses with illustrative images of the changes.

It is possible to observe that the TNF-alpha (Figure 1) values were significantly higher for all experiments compared with those of the Sham group ( $p = 0.001$ ), except

for the comparisons between the experimental group IAP5 and the Sham group and between the IAP5 and IAP8 experimental groups.

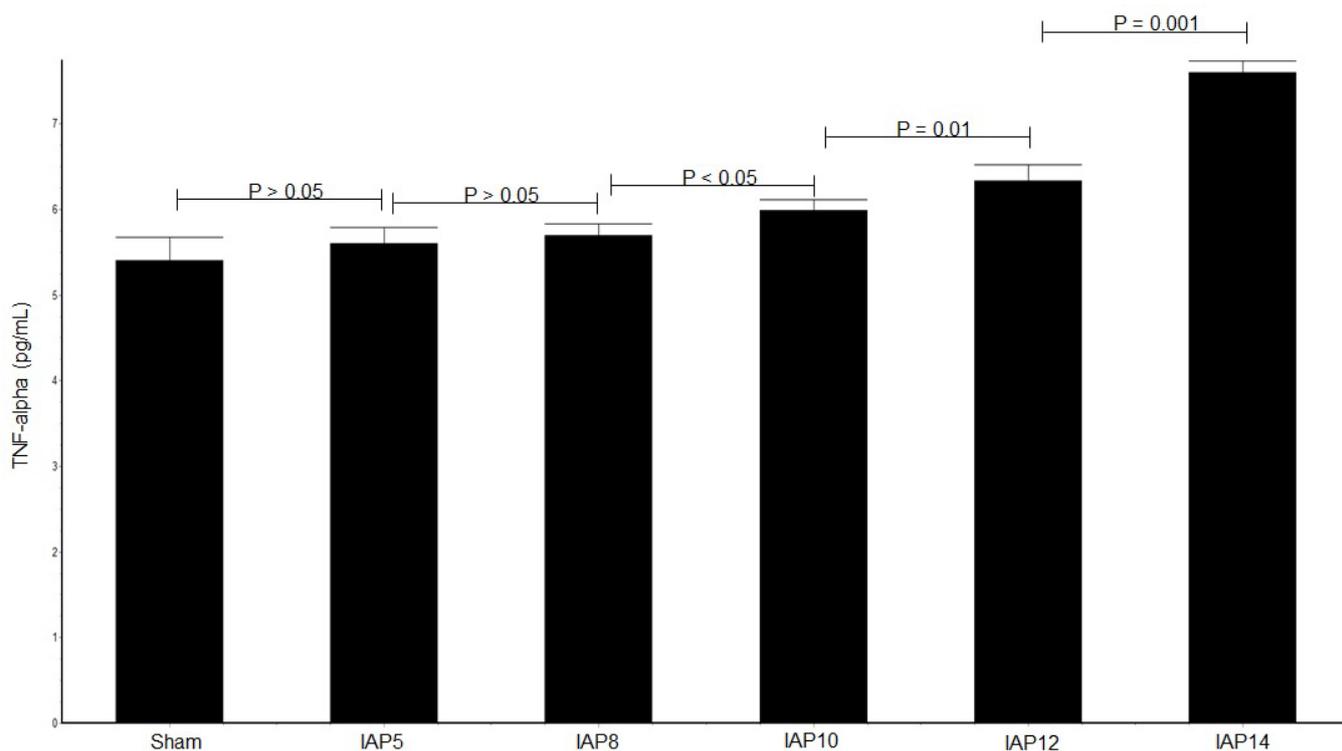


Figure 1: Effect of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum at different IAPs on tissue TNF-alpha concentrations. TNF-alpha levels were not significantly different between groups Sham and IAP-5. Significant differences were observed when comparing the Sham group with all other groups, IAP8 with IAP10, IAP10 with IAP12, and IAP12 with IAP14. TNF-alpha = tumor necrosis factor-alpha; IAP = intra-abdominal pressure.

Regarding IL-1beta (Figure 2), there were significant differences for all comparisons between the control group and the other experimental groups ( $p = 0.001$ ), except for the comparisons between the experimental group IAP5 and the Sham group, and the IAP5 and IAP8 experimental groups.

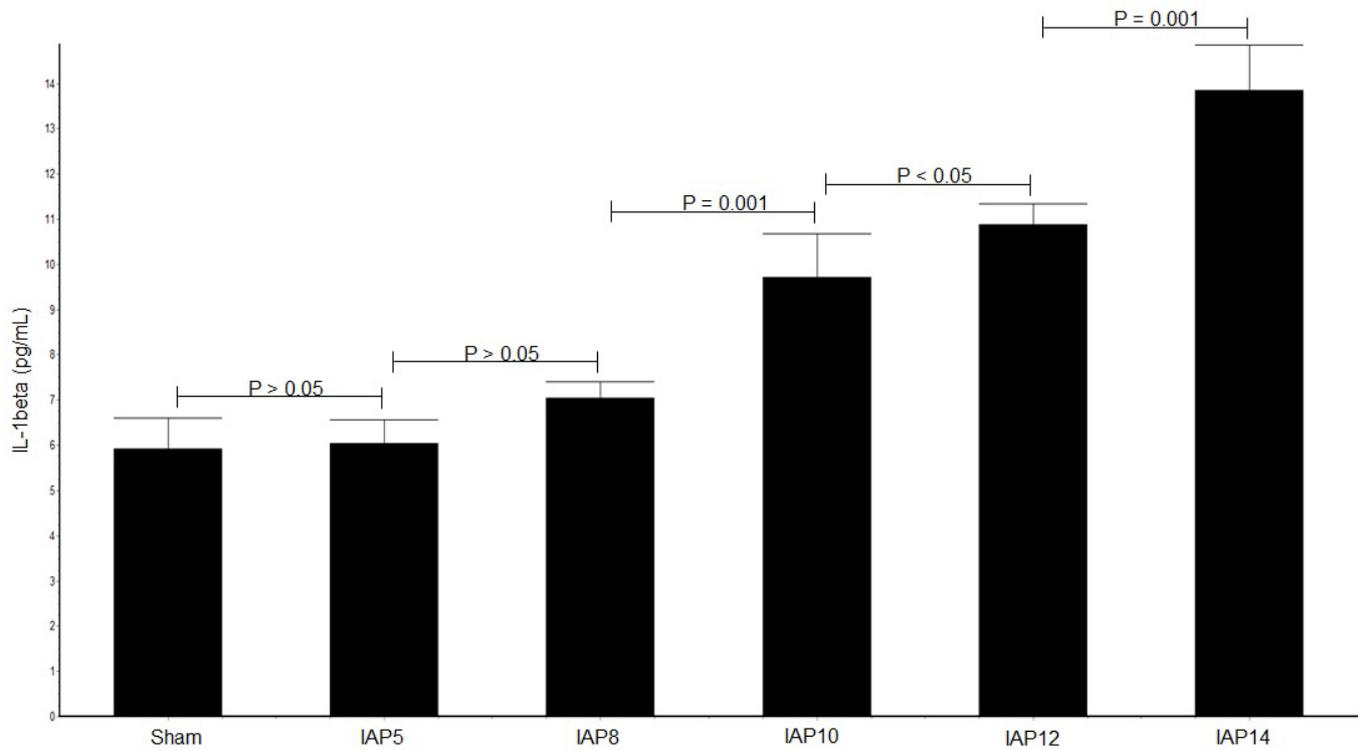


Figure 2: Effect of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum at different IAPs on tissue IL-1b concentrations. IL-1b levels were not significantly different between the Sham, IAP-5 and IAP8 groups. Significant differences were observed when comparing group Sham with all other groups, and comparing IAP8 with IAP10, IAP10 with IAP12, and IAP12 with IAP14. IL1b, interleukin-1beta; IAP, intra-abdominal pressure.

IL-6 levels (Figure 3) were significantly higher for all comparisons between the control group (Sham) and other experimental groups ( $p = 0.001$ ).

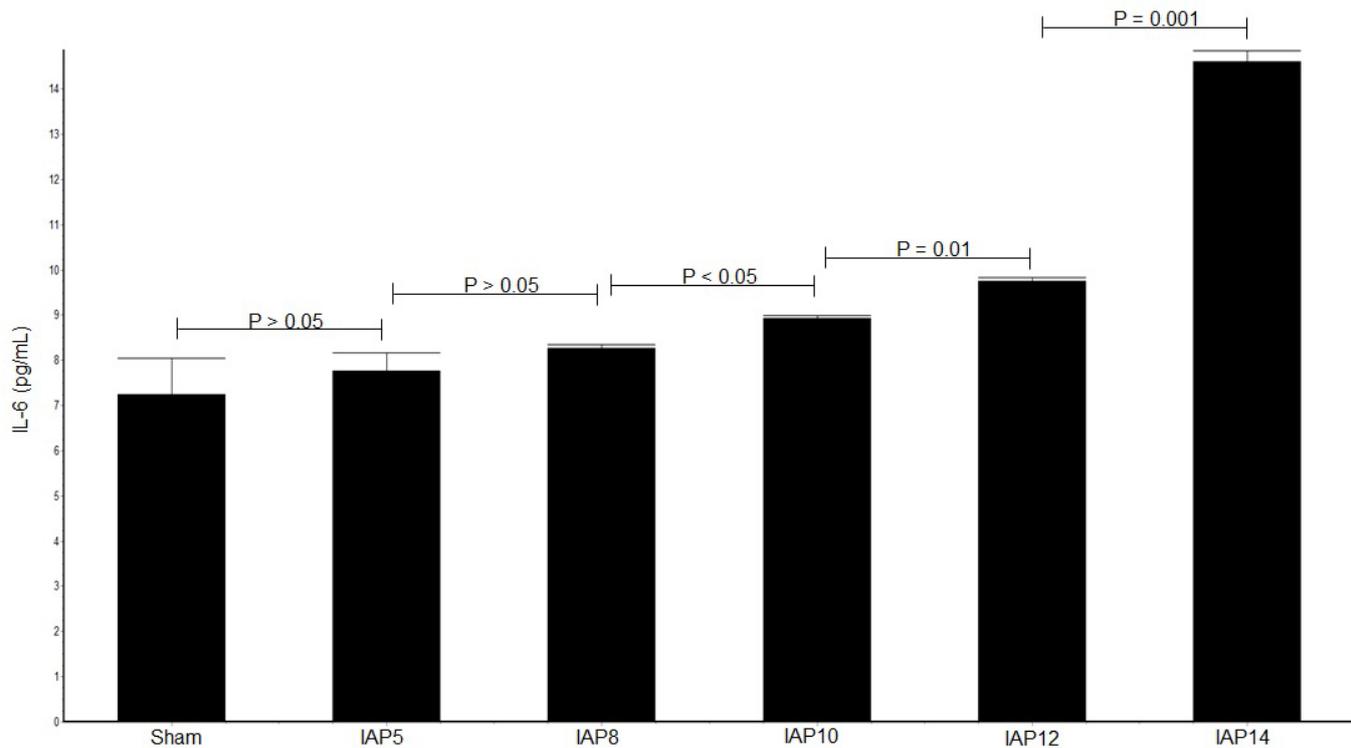


Figure 3: Effect of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum at different IAPs on tissue IL-6 concentrations. IL-6 levels were not significantly different between the Sham and IAP-5 groups and between the IAP5 and IAP8 groups. Significant differences were observed when comparing groups IAP8 with IAP10, IAP10 with IAP12, and IAP12 with IAP14.

Tissue analysis showed increased MDA concentrations (Figure 4) in the lungs for groups IAP8, IAP10, IAP12, and IAP14 when compared with the Sham and IAP5 groups ( $p=0.001$ ). The rats subjected to CO<sub>2</sub> PNP with 8, 10, 12, and 14 mmHg showed significant difference when comparing IAP8 with other groups ( $p=0.001$ ), IAP10 with IAP12 and IAP14 ( $p=0.001$ ), and IAP12 with IAP14 ( $p=0.001$ ).

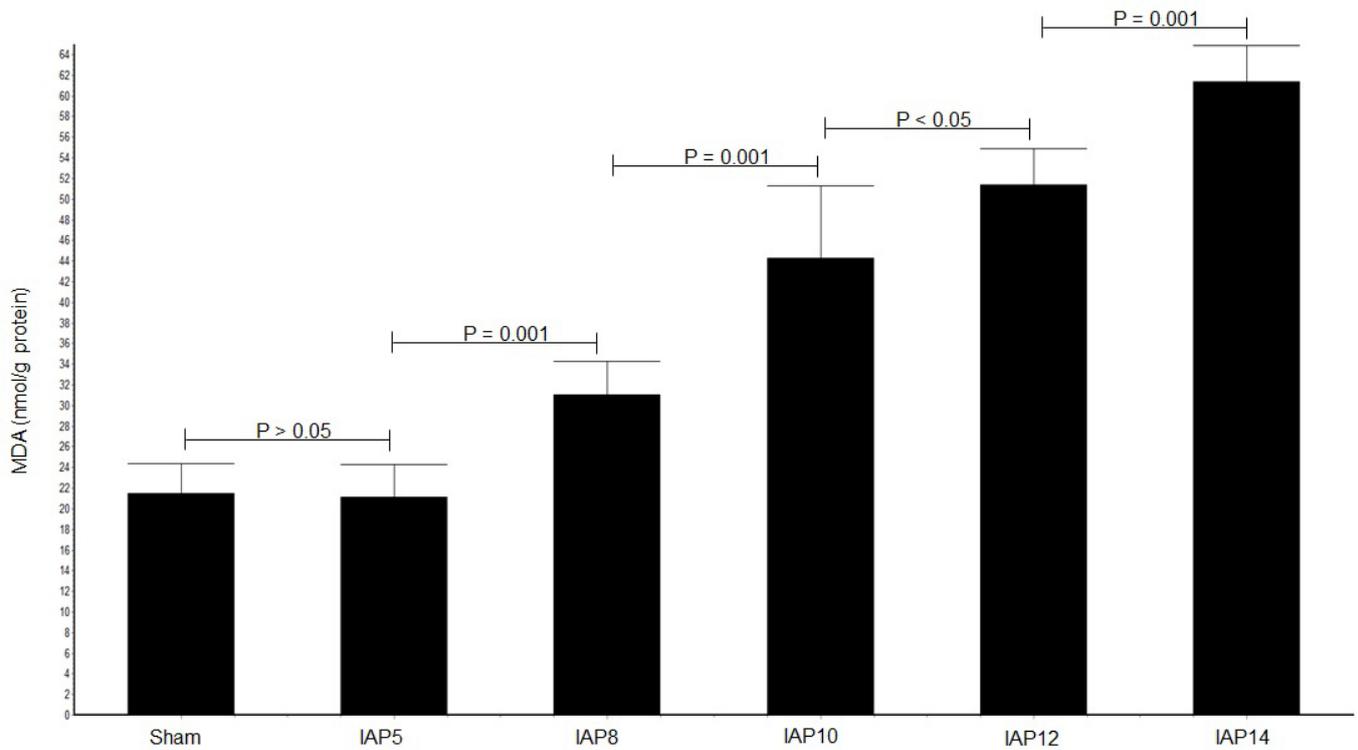


Figure 4: Effect of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum at different IAPs on tissue MDA concentrations. MDA levels were significantly higher in groups IAP8, IAP10, IAP12, and IAP14 than in the Sham and IAP5 group. No difference was observed between groups Sham and IAP5.

MPO levels (Figure 5) were significantly higher in group IAP14 than in others groups ( $p = 0.001$ ). However, there was no difference in MPO levels between groups IAP5 when compared with IAP8.

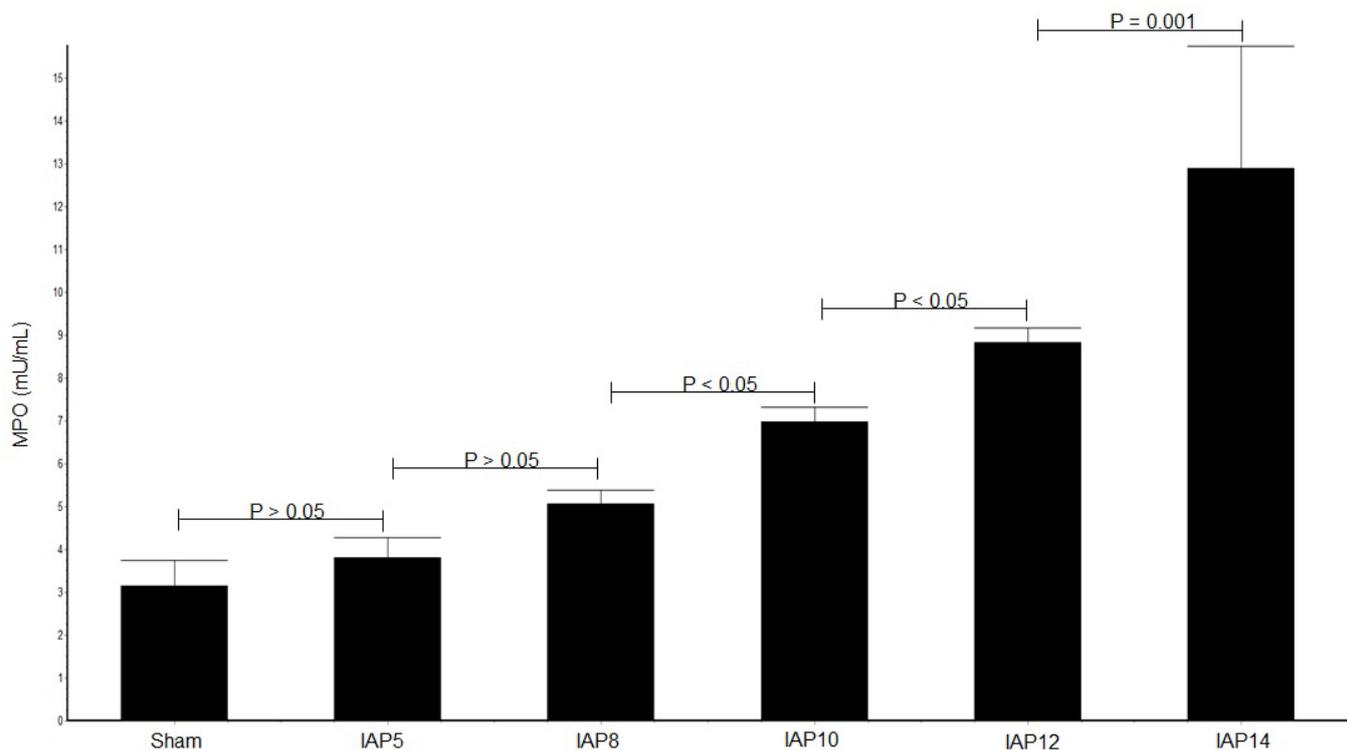


Figure 5: Effect of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum at different IAPs on tissue MPO concentrations. MPO levels were significantly higher in groups IAP8, IAP10, IAP12, and IAP14 when compared with those of the Sham group. There was no statistical difference between groups Sham and IAP5 and IAP5 and IAP8. MPO, myeloperoxidase activity; IAP, intra-abdominal pressure.

On the histological evaluation, analyses of different groups showed histological changes more noticeable and characterizable in the groups with major intra-abdominal pressure regimes. The differences were clearer when comparing the extreme groups (Sham and lower pressures vs. higher pressures). In the group undergoing the regime of higher pressures (IAP14) there was markedly severe disruption of the alveolar septa, edema, diffuse bleeding and presence of increased inflammatory infiltration as in the comparative picture below. The IAP10 and IAP12 groups showed changes in the cellular architecture with swelling, rupturing of the septum, and inflammatory infiltration, but at lower levels than the IAP14 group and clearly higher than the IAP8, IAP5 and Sham groups. Samples of lung tissue of IAP8 group showed some changes in the architecture, alveolar damage, increased alveolar septum and inflammatory infiltration, although to a lesser degree than the groups subjected to higher pressure regimes, as shown below on Figure 6.

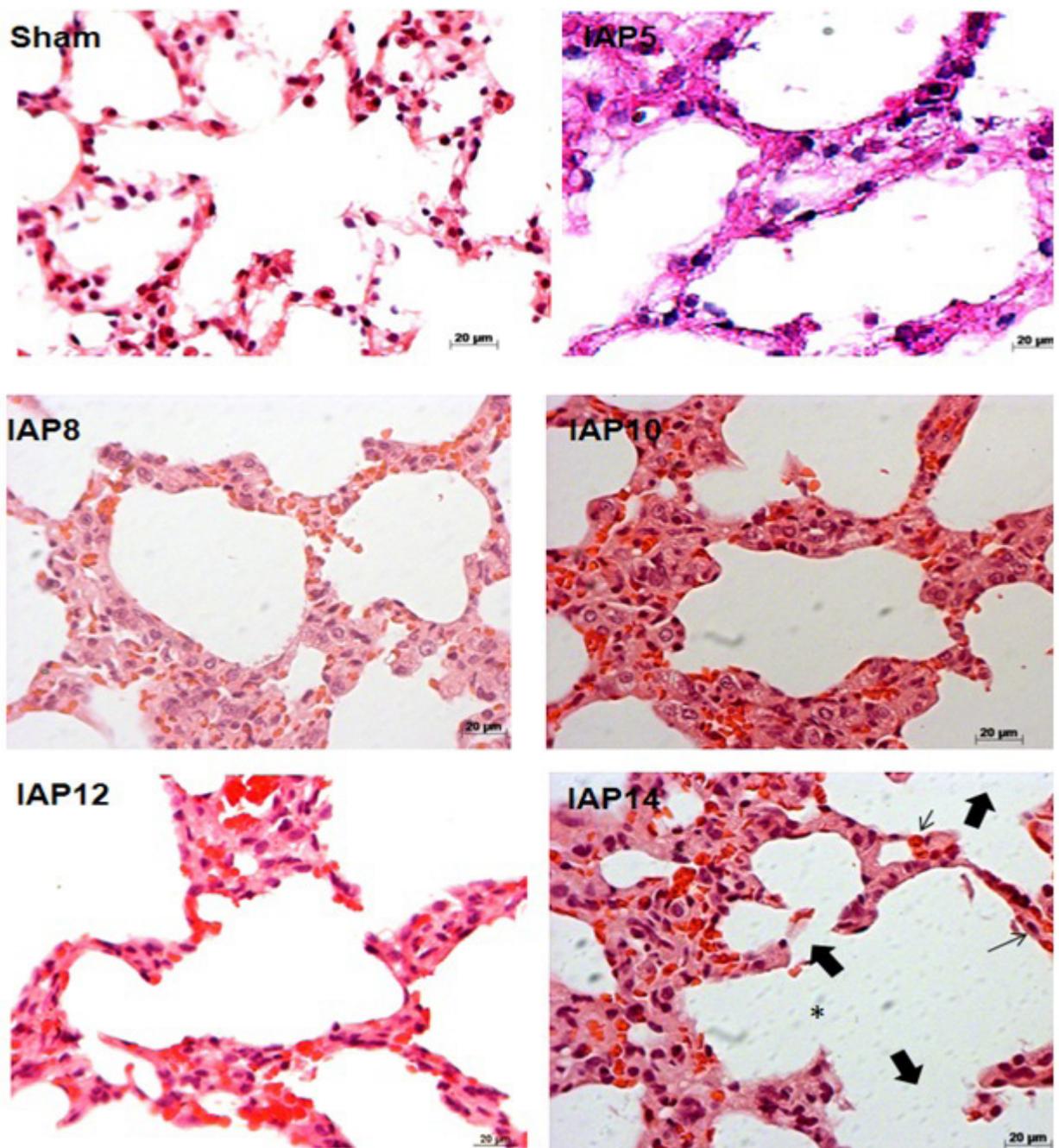


Figure 6: Histological evaluation of the alveoli in group IAP14 showing wall thickening and rupture of alveolar septum (thin full arrow), edema (asterisk), red blood cell (thin small arrow), and PMN influx (thin long arrow). As for the other groups, alterations in the alveolar structure were observed in lesser extension in the lower pressure groups, except for the Sham and IAP5 groups.

## DISCUSSION

This study was designed to determine the impact of different IAP in the lungs. The findings were quite consistent and maintained a standard throughout the different groups, showing the direct relationship between the inflation pressure of the PNP and the pulmonary changes, evaluating oxidative stress (MDA and MPO), inflammatory cytokines (TNF-alpha, IL-1beta and IL-6), and histological findings. The study analyzed six different groups using five different levels of IAP to measure

the consistence and magnitude of difference of pulmonary changes with respect to oxidative stress and inflammatory response. Most studies in the literature use only two to three different IAP regimes [25-28] and the used other gases (e.g. nitrous oxide, helium, or room air), but the most used is CO<sub>2</sub> [29].

Reduction of the antioxidant defenses make the cells more susceptible to oxidative attack [30] 30. After 30 min of abdominal deflation, reperfusion in the abdominal organ resulted in increased oxidative stress and lipid peroxidation [27]. Cevrioglu et al., reported increased plasma oxidative stress (MDA) and cytokine response (TNF-alpha and IL-6) in a group receiving 15 mmHg IAP [18]. The present study corroborates and expanded their results by analyzing MDA and cytokines in the lung tissue, finding higher values for the IAP14 group compared with those of the other groups ( $p<0.05$ ).

In another study, Runck et al. observed decreased compliance of the respiratory system after increase of the IAP in mechanically ventilated mice [21]. The progressive increase of IAP promotes inversely proportional reduction in the respiratory compliance. Decrease in the compliance of the respiratory system implies average increase in the inspiratory pressure values for compensation, leading to increased driving pressure, exposure of the respiratory system under physiological systems with higher pressures, and consequently more inflammation and ROS production. To prevent atelectasis, hypoxemia, and pulmonary lesions, PEEP should not be neglected to counteract the IAP. Therefore, the higher the IAP, the greater the resistance in the respiratory system, which is directly associated with the increase of inflammatory markers [31,32] in accordance with the results obtained in this study.

Pneumoperitoneum increases the inflammation of cytokines causing damage in cell structures, capillary endothelium, and pulmonary tissue, resulting in lung injury [31]. During laparoscopy surgery the production of TNF-alpha was associate with the activity of peritoneal macrophages and after pneumoperitoneum associate with increased levels of IL-6 and TNF-alpha [18,33-36]. Our results show the increase inflammatory mediators in the lung tissue as the IAP increased.

Strang et al. [37] in a porcine model, demonstrated the direct correlation between increased IAP pressures and atelectasis incidence. Different IAP CO<sub>2</sub> levels were applied to mechanically ventilated pigs in the supine position and the proportion of atelectasis was assessed after the application of PNP. The following results were found: the control group (without PNP inflation) presented 4% of atelectasis on average, group IAP8 showed 9%, group IAP12, had 12%, and group IAP16, presented 16 % of atelectasis, showing the direct relationship between the increase in the PNP inflation pressure and the presence of atelectasis.

In our study, the histopathological examination of the lung tissue was consistent with biochemical data analyses. The histological indicators show significant tissue

damage in the IAP12 and IAP14 groups, considering that there is a clash of pressures due to mechanical ventilation associated with intra-abdominal insufflations (PNP), likely leading to some pulmonary hypoperfusion, which is in accordance with the literature. In contrast, low intra-abdominal pressure levels reduce pulmonary damage, confirming the beneficial effects of the use of lower intra-abdominal pressure levels for the PNP inflation corroborated with the other studies [38-42].

PNP induces oxidative stress systemically. The same occurs in the lung submitted to a regime of non-physiological pressure levels, which further accentuates the change in homeostasis. Inflammatory factors caused by the surgery trauma, PNP pressure, and mechanical ventilation promote the formation of these ROS, time-exposure dependent [39-43].

This study has several limitations. First, while the results this study clearly show a no different ventilatory parameters when we used different PNP. Secondly, the position of the rats was not studied, this condition may be affecting the concentration of oxidative stress and inflammatory mediators in the lung. We were also not able to differentiate the changes in activity and expression of other analyses of anti-oxidative and anti-inflammatory mediators. Thirdly, this study was conducted in healthy rats. Lastly, we not evaluated the activity of lung and peritoneal macrophage.

## **CONCLUSION**

In conclusion, our study shows that while lung inflammatory mediators and oxidative stress when we increased intra-abdominal pressure, confirmed in the histological analysis. Although these findings are not transferrable to clinical practice, they highlight the future potential in protocols with the use of low intra-abdominal pressures during CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum in laparoscopic surgery.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors are grateful to the Sao Paulo Research Foundation (FAPESP; 14/12730-6) and to the Saul Goldemberg vivarium at the Federal University of São Paulo (UNIFESP) for the maintenance of the animals during the preoperatively phase. Pilot study result was presented at the ATS 2016 International Conference, May 13-18, 2016, San Francisco, California.

## **COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS**

Disclosures C.A. Dato, K. Vasconcelos, L.C. Teixeira, and Drs. J.C.M. Brandão, L.F.R. Falcão, D. Ferez, M. Munechika and I.S. Oliveira-Júnior have no conflict

of interest or financial ties to disclose. Dr. I.S. Oliveira-Júnior reports a restricted educational Grant the Sao Paulo Research Foundation during the conduct of this trial.

## REFERENCES

- [1] Shabanzadeh DM, Sorensen LT. Laparoscopic surgery compared with open surgery decreases surgical site infection in obese patients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* 2012;256: 934-945.
- [2] Nguyen KT, Marsh JW, Tsung A, Steel JJ, Gamblin TC, Geller DA. Comparative benefits of laparoscopic vs open hepatic resection: a critical appraisal. *Arch Surg*. 2011;146:348-356.
- [3] Gurusamy KS, Samraj K, Fusai G, Davidson BR. Early versus delayed laparoscopic cholecystectomy for biliary colic. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;CD007196.
- [4] Takata MC, Kebebew E, Clark OH, Duh QY. Laparoscopic bilateral adrenalectomy: results for 30 consecutive cases. *Surg Endosc* 2008;22:202-207.
- [5] Grace PA, Quereshi A, Coleman J, Keane R, McEntee G, Broe P, Osborne H, Bouchier-Hayes D. Reduced postoperative hospitalization after laparoscopic cholecystectomy. *Br J Surg* 1991;78:160-162.
- [6] Joris J, Cigarini I, Legrand M, Jacquet N, De Groote D, Franchimont P, Lamy M. Metabolic and respiratory changes after cholecystectomy performed via laparotomy or laparoscopy. *Br J Anaesth* 1992;69:341-345.
- [7] Schafer M, Sagesser H, Reichen J, Krahenbuhl L. Alterations in hemodynamics and hepatic and splanchnic circulation during laparoscopy in rats. *Surg Endosc* 2001;15:1197–1201.
- [8] Unsal MA, Imamoglu M, Cay A, Kadioglu M, Aydin S, Ulku C, Kesim M, Alver A, Bozkaya H. The acute alterations in biochemistry, morphology and contractility of the rat isolated urinary bladder induced by increased intra-abdominal pressure. *Gynecol Obstet Invest* 2006;61:179-187.
- [9] Unsal MA, Imamoğlu M, Kadioğlu M, Aydin S, Ulku C, Kesim M, Alver A, Bozkaya H. The acute alterations in biochemistry, morphology, and contractility of rat-isolated terminal ileum via increased intra-abdominal pressure. *Pharmacol Res* 2006;53:135-141.
- [10] Schilling MK, Redaelli C, Krahenbühl, Signer C, Büchler MW. Splanchnic microcirculatory changes during CO2 laparoscopy. *J Am Coll Surg* 1997;184:378-382.
- [11] Sammour T, Mittal A, Loveday BP, Kahokehr A, Phillips AR, Windsor JA, Hill AG. Systematic review of oxidative stress associated with pneumoperitoneum. *Br J Surg* 2009; 96: 836-850.
- [12] Hirvonen EA, Nuutinen LS, Kauko M. Hemodynamic changes and pneumoperitoneum during laparoscopic hysterectomy. *Acta Anaesthesiol Scand* 1995;39:949-955.
- [13] Walder AD, Aitkenhead AR. Role of vasopressin in the haemodynamic response to laparoscopic cholecystectomy. *Br J Anaesth* 1997;78: 264-266.
- [14] Joris JL, Chiche JD, Canivet JL, Jaquet NJ, Legros JJ, Lamy ML. Hemodynamic changes induced by laparoscopy and their endocrine correlates: effects of clonidine. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1389-1396.
- [15] Szold A, Weinbroum AA. Carbon dioxide pneumoperitoneum related liver injury is pressure

dependent: A study in an isolated perfused organ model. *Surg Endosc* 2008; 22:365-371.

[16] Unsal MA, Guven S, Imamoglu M, Aydin S, Alver A (2009) The effect of CO2 insufflation-desufflation attacks on tissue oxidative stress markers during laparoscopy: a rat model. *Fertil Steril* 2009;92:363-368.

[17] Cay A, Imamoglu M, Unsal MA, Aydin S, Alver A, Akyol A, Sarihan H. Does anti-oxidant prophylaxis with melatonin prevent adverse outcomes related to increased oxidative stress caused by laparoscopy in experimental rat model? *J Surg Research* 2006;135:2-8.

[18] Cevrioglu AS, Yilmaz S, Koken T, Tokyol C, Yilmazer M, Fenkci IV. Comparison of the effects of low intra-abdominal pressure and ischaemic preconditioning on the generation of oxidative stress markers and inflammatory cytokines during laparoscopy in rats. *Hum Reprod* 2004;19:2144-2151.

[19] Rauh R, Hemmerling TM, Rist M, Jacobi KE. Influence of pneumoperitoneum and patient positioning on respiratory system compliance. *J Clin Anesth* 2001;13: 361-365.

[20] Gutt CN, Oniu T, Mehrabi A, Schemmer P, Kashfi A, Kraus T, Buchler MW. Circulatory and respiratory complications of carbon dioxide insufflation. *Dig Surg* 2004;21:95-105.

[21] Runck H, Schumann S, Tacke S, Haberstroh J, Guttman J. Effects of intra-abdominal pressure on respiratory system mechanics in mechanically ventilated rats. *Respir Physiol Neurobiol* 2012;180:204-210.

[22] Chok KS, Yuen WK, Lau WH, Fan ST. Prospective Randomized Trial on Low-pressure Versus Standard-pressure Pneumoperitoneum in Outpatient Laparoscopic Cholecystectomy. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2006;16:383-386.

[23] Hua J, Gong J, Yao L, Zhou B, Song Z. Low-pressure versus standard-pressure pneumoperitoneum for laparoscopic cholecystectomy: a systematic review and meta-analysis. *Am J Surg* 2014;208:143-150

[24] Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Papanotas K, Heliadis N, Sarris K. Gut ischemia, oxidative stress, and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. *World J Surg* 1996;20:11-16.

[25] Biler A, Yucebilgin S, Sendag F, Akman L, Akdemir A, Ates U, Uyanikgil Y, Yilmaz-Dilsiz O, Sezer E. The effects of different intraabdominal pressure protocols in laparoscopic procedures on oxidative stress markers and morphology in rat ovaries. *Adv Clin Exp Med* 2014;23:885-892.

[26] Yu T, Cheng Y, Wang X, Tu B, Cheng N, Gong J, Bai L. Gases for establishing pneumoperitoneum during laparoscopic abdominal surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Jun 21;6:CD009569.

[27] Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* 1993;215:213-219.

[28] Ozmen MM, Zulfikaroglu B, Col C, Cinel I, Isman FK, Cinel L, Besler TH. Effect of increased abdominal pressure on cytokines (IL1b, IL6, TNFa), C-reactive Protein (CRP), Free Radicals (NO, MDA), and Histology. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2009;19:142-147.

[29] Rubini A, Monte DD, Catena V (2012) Effects of the pneumoperitoneum and Trendelenburg position on respiratory mechanics in the rats by the end-inflation occlusion method. *Ann Thorac Med* 2012;7:205-209.

[30] Schwenk W, Jacobi C, Mansmann U, Bohm B and Muller JM. Inflammatory response after laparoscopic and conventional colorectal resections - results of a prospective randomized trial. *Langenbecks Arch Surg* 2000;385:2-9.

- [31] Gupta A, Watson DI (2001) Effect of laparoscopy on immune function. *Br J Surg* 2001;88:1296-1306.
- [32] Altindis M, Yilmaz S, Polat C, Serteser M. Sequential periods of preconditioning decrease laparoscopy-related elevations in hepatic TNF-alpha and IL-6 levels in rats. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2004;14:380-383.
- [33] Ates E, Yilmaz S, Ihtiyar E, Yasar B, Karahuseyinoglu E. Preconditioning-like amelioration of erythropoietin against laparoscopy-induced oxidative injury. *Surg Endosc* 2006;20:815-819.
- [34] Strang CM, Ebmeyer U, Maripuu E, Hachenberg T, Hedenstierna G. Improved ventilation-perfusion matching by abdominal insufflation (pneumoperitoneum) with CO<sub>2</sub> but not with air. *Minerva Anesthesiol* 2013;79:617-625.
- [35] Papparella A, Nino F, Coppola S. Peritoneal Morphological Changes due to Pneumoperitoneum: The Effect of Intra-abdominal Pressure. *Eur J Pediatr Surg* 2014;24:322-327.
- [36] Blobner M, Frick CG, Stauble RB, Feussner H, Schaller SJ, Unterbuchner C, Lingg C, Geisler M, Fink H. Neuromuscular blockade improves surgical conditions (NISCO). *Surg Endosc* 2015;29:627-636.
- [37] Biler A, Yucebilgin S, Sendag F, Akman L, Akdemir A, Ates U, Uyanikgil Y, Yilmaz-Dilsiz O, Sezer E.) The effects of different intraabdominal pressure protocols in laparoscopic procedures on oxidative stress markers and morphology in rat ovaries. *Adv Clin Exp Med* 2014;23:885-892.
- [38] Yoshino O, Quail A, Oldmeadow C. The interpretation of intra-abdominal pressures from animal models: The rabbit to human example *Injury. Int J Care Injured* 2012;43:169-173.
- [39] Avital S, Refaellitah AE, Szomstein AES. Correlation of CO<sub>2</sub> pneumoperitoneal pressures between rodents and humans. *Surg Endosc* 2009;23:50-54.
- [40] Kontoulis TM, Pissas DG, Pavlidis TE, Pissas GG, Lalountas MA, Koliakos G, Topouridou K, Sakantamis AK. The oxidative effect of prolonged CO(2) pneumoperitoneum a comparative study in rats. *J Surg Res* 2012;175:259-264.
- [41] Aran T, Unsal MA, Guven S, Kart C, Cetin EC, Alver A. Carbon dioxide pneumoperitoneum induces systemic oxidative stress: a clinical study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;161:80-83.
- [42] Yiannakopoulou E, Nikiteas N, Perrea D, Tsigris C. Minimally invasive surgery and oxidative stress response: what have we learned from animal studies? *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2013;23:25-28.
- [43] Sen MC, Turkyilmaz Z, Sonmez K, Karabulut R, Kaya Z, Yenicesu I, Gursel T, Basaklar AC. The effect of carbon dioxide insufflation applied at different pressures and periods on thrombotic factors. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2016;32:87-91.

## ESTUDO HISTOLÓGICO DA EXPRESSÃO DA AQUAPORINA 2 EM NERVO FACIAL DE RATOS

*Data de aceite: 19/11/2018*

**Luiza de Almeida Gondra Limeira**  
**José Ricardo Gurgel Testa**  
**Andrei Borin**  
**Luciene Covolan**  
**Felipe Costa Neiva**  
**Maria Regina Regis Silva**

**RESUMO:** Introdução: A paralisia facial é uma mononeuropatia comum que ocorre quando há interrupção da atividade do nervo facial. A fisiopatologia da paralisia facial idiopática é incerta, podendo ser mediada pela expressão de aquaporinas (AQPs), capazes de influenciar o edema e a condução neural por mecanismos relacionados a homeostase da água. Três AQPs (1, 2 e 4) foram encontradas no sistema nervoso periférico (SNP) e especificamente no nervo facial, foram identificadas as AQP 1 e 2. Objetivo: Descrever a expressão e localização histológica da AQP 2 no nervo facial de ratos. Métodos: Cinco ratos adultos Wistar foram utilizados no estudo. No dia zero do experimento (D0), quatro animais foram submetidos a compressão da porção extratemporal do nervo facial direito (grupo LESÃO) e um rato à dissecação da pele e subcutâneo em região retroauricular direita (grupo SHAM). No dia

seguinte (D1), foram obtidos entre 3 e 8 mm do segmento extratemporal do nervo facial direito e esquerdo de todos os animais. As dez amostras dos nervos facial foram processadas para moldagem em parafina e confeccionadas lâminas para coloração em hematoxilina-eosina (HE) e realização de imuno-histoquímica (IHQ) com o anticorpo anti-AQP2. Foi realizada análise qualitativa das lâminas e contagem das células de Schwann imunomarcadas com o anticorpo. Resultados: Nos cortes em HE foi observada degeneração walleriana em 40% das amostras. Foi confirmada a expressão da AQP 2 no nervo facial de ratos. Em todos os nervos foi observada a presença do anticorpo, com maior expressão em células de Schwann e células do endotélio e menor expressão em citoplasma dos axônios, células perineurais e epineuro. A contagem das células de Schwann revelou em dois animais uma diferença estatística entre grupo LESÃO e nervos controles correspondentes, com maior expressão da AQP 2 nos nervos submetidos a compressão. Conclusão: A presença da AQP 2 em nervo facial de ratos foi confirmada e sua expressão nesse tecido foi independente de qualquer intervenção cirúrgica. Após compressão do nervo facial, a marcação desta proteína aumentou, possivelmente mediando a instalação do edema neste tecido.

**ABSTRACT:** Introduction: Facial palsy is a common mononeuropathy that occurring when interruption of facial nerve activity. The pathophysiology of idiopathic facial paralysis is uncertain and one of the possibilities would be the expression of aquaporins (AQPs), which influences neural edema and synaptic transmission by mechanisms of water homeostasis. Three AQPs (1, 2 and 4) were identified in the peripheral nervous system (PNS), and specifically in the facial nerve was identified AQP 1 and 2. Objective: Describe the expression and histological preference location of AQP 2 in the facial nerve of rats. Methods: Five adult Wistar rats were used in the study. On the day zero (D0), four animals were submitted to compression of the extratemporal trunk of the right facial nerve (LESION group) and in one rat submitted to skin and subcutaneous dissection at right retroauricular region (SHAM group). On the following day (D1), the extratemporal segment (about 3 to 8 mm) of the right and left facial nerve of all animals were removed. The ten facial nerves samples were processed for paraffin sections to hematoxylin-eosin staining (HE) and immunohistochemistry using the anti-AQP 2 antibody. Qualitative analysis of the samples and Schwann cell immunolabelled counts where proceed. Results: Wallerian Degeneration was observed in HE slides in 40% of the samples. The expression of AQP 2 on the facial nerve of rats was confirmed. In all nerves the presence of the antibody was observed, with greater expression in Schwann cells and endothelial cells and less expression in the cytoplasm of axons, perineural cells and epineurium. Schwann cell count showed in two animals a statistical difference between the LESION group and the corresponding control nerves, with higher expression of AQP 2 on the nerves submitted to compression. Conclusion: The presence of AQP 2 in the facial nerve of rats was confirmed and the expression in this tissue was independent of any surgical intervention. After compression of the facial nerve, the marking of this protein increased, contributing for installation of the edema in this tissue.

## 1 | INTRODUÇÃO

O nervo facial é o VII nervo craniano, com funções motora (movimento voluntário da mímica facial), sensorial (gustação dos dois terços anteriores da língua) e autonômica (secreção salivar e lacrimal). Recebe axônios dos núcleos solitário e salivatório superior, formando o nervo intermédio (axônios sensoriais e parassimpáticos) e das fibras motoras eferentes do núcleo do facial localizado na ponte do tronco cerebral. O nervo facial ao sair do seu núcleo possui três segmentos: intracraniano, intratemporal e extratemporal. A porção intracraniana é localizada entre o ângulo ponto-cerebelar e o meato acústico interno que é acompanhado do nervo vestibulococlear (VIII par craniano). Na porção intratemporal emite os ramos do nervo petroso superficial maior, nervo para o músculo estapédio e nervo corda do tímpano, saindo do osso temporal através forame estilomastoídeo. A partir

deste momento é chamado de segmento extratemporal o qual emite ramos para o músculo digástrico, nervo auricular posterior e ramos terminais para a musculatura da face, que possuem significantes variações anatômicas.<sup>(1)</sup> No rato, o nervo facial possui estrutura anatômica semelhante ao humano, especialmente sua porção extratemporal.<sup>(2)</sup>

A paralisia facial periférica é uma neuropatia comum que ocorre quando há interrupção da atividade do nervo facial pelo acometimento deste nervo após sua emergência no tronco cerebral. Em meados de 500aC, Hipocrates descreveu sua ocorrência e a comparou com a paralisia de origem central. Seu estudo recebeu contribuições de gregos, romanos, pérsios (Razi, 870dC), entre outros e foi consagrada por Charles Bell em 1821.<sup>(3)</sup> Várias são as causas de paralisia facial periférica devido a sua longa trajetória após saída do tronco encefálico (Quadro 1). Em um estudo retrospectivo com 2000 casos de paralisia facial, observou-se que a Paralisia de Bell ou paralisia facial idiopática é a etiologia mais comum em cerca 38% dos pacientes, seguida de ressecção de Schwannoma Vestibular em 10%, câncer em 7%, danos iatrogênicos em 7%, infecção por vírus Varicela-Zoster (Síndrome de Ramsay Hunt) em 7%, lesões benignas em 5%, paralisia facial congênita em 5%, Doença de Lyme em 4% e outras causas em 17%.<sup>(4)</sup>

<b>ETIOLOGIAS DA PARALISIA FACIAL PERIFÉRICA</b>
<b>CAUSAS CONGÊNITAS</b>
TRAUMA DO PARTO
SÍNDROMES GENÉTICAS SÍNDROME MELKERSON-ROSENTHAL DOENÇA DE ALBERS-SCHÖNBERG SÍNDROME MOEBIUS SÍNDROME GOLDENHAR (DISPLASIA OCULO-AURICULO-VERTEBRAL)
<b>CAUSAS ADQUIRIDAS</b>
INFECIOSAS DOENÇA DE LYME HERPES SIMPLES VÍRUS VÍRUS VARICELA ZOSTER (SÍNDROME RAMSAY-HUNT) OTITE MÉDIA OUTRAS (HERPESVÍRUS TIPO 6, COXSACKIE VÍRUS, ADENOVÍRUS)
TRAUMÁTICA
NEOPLASIAS
ASSOCIADA A HIPERTENSÃO
<b>IDIOPÁTICA (PARALISIA DE BELL)</b>

Quadro 1. Principais etiologias da paralisia facial periférica.

Nota: Adaptado de Lorch M, Teach SJ. Facial nerve palsy: aetiology and approach to diagnosis and treatment. *Pediatric Emergency Care* 2010; 26: 763–769.<sup>(5)</sup>

A Paralisia facial periférica idiopática atinge homens e mulheres em mesma proporção e em todas as idades, com um pico máximo de incidência entre 15 e 45 anos.<sup>(6)</sup> Estima-se 11,5 a 40,2 casos por 100.000 habitantes com estudos específicos demonstrando incidências similares em países como Japão, Reino Unido e Estados Unidos. A apresentação clínica típica é de um acometimento súbito e unilateral do neurônio motor inferior com surgimento de fraqueza em hemiface, dor retroauricular, disgeusia, hiperacusia e alteração subjetiva da sensibilidade facial. Esta apresentação clínica pode ser explicada pela construção anatômica do nervo facial, especialmente da união de fibras motoras, sensoriais e parassimpáticas. O pico dos sintomas ocorre nas primeiras 48-72 horas e a severidade da paralisia se correlaciona com a duração da disfunção do nervo, recuperação e comprometimento da qualidade de vida.<sup>(1)</sup> Apesar disso, cerca de 70% dos pacientes recuperam espontaneamente a função do nervo facial mesmo sem tratamento, com melhor prognóstico quando o início da recuperação acontece nas primeiras três semanas e com pior prognóstico quando acomete indivíduos com idades mais avançadas.<sup>(6)</sup>

Apesar de amplamente estudada, a fisiopatologia da paralisia facial periférica idiopática é incerta. Dentre as diversas teorias, especula-se possível contribuição imune, infecciosa e isquêmica no seu desenvolvimento, entre eles o papel da reativação do vírus herpes simples (HSV) no gânglio geniculado do nervo facial.<sup>(1,7)</sup> A infecção ativa do vírus pode gerar degradação intra-axonal por resposta direta ou indireta ao vírus em fenótipos susceptíveis. Os mecanismos que podem estar envolvidos na degeneração walleriana são a resposta imune inata contra a entrada do HSV no sistema nervoso central (SNC), a desregulação da homeostase de sódio intraneuronal e ação da imunidade celular contra componentes da mielina.<sup>(8)</sup>

Estudos tem apontado para uma associação da expressão das aquaporinas (AQPs) com a disfunção da condução neural e transmissão sináptica, por mecanismos relacionados a homeostase da água, gerando edema neural.<sup>(9)</sup>

As AQPs são uma família de proteínas pequenas (30kDa/monômero) presentes nas células de diversos seres vivos e responsáveis por facilitar o transporte transepitelial de fluidos. Em mamíferos foram encontrados pelo menos 13 tipos destas proteínas (AQP 0-12): as AQPs 1, 2, 4, 5 e 8 são primariamente seletivas para água enquanto as AQPs 3, 7 e 9 (aquagliceroporinas) também transportam glicerol e uma possibilidade de outros pequenos solutos. AQPs são expressas em muitos epitélios e endotélios, como nos rins, tecido glandular, alveolar e plexo coróide, além de células que transportam pouco fluido, como células da pele e do tecido gorduroso. Participam da regulação de funções celulares importantes como proliferação e migração, apoptose, fagocitose e transdução do sinal neural. Estas funções ocorrem devido ao aumento da permeabilidade transmembrana celular de água, gerado pelo gradiente osmótico de íons e solutos. As AQPs são consideradas

proteínas da membrana celular, com exceção da AQP2 que está presente também em vesículas citoplasmáticas, sendo agregada oportunamente à membrana plasmática.<sup>(10-14)</sup>

Estudos sobre distribuição e regulação nos tecidos têm promovido evidências indiretas de envolvimento das AQPs em uma variedade de processos fisiológicos. As AQPs 1–4 parecem ser responsáveis pelo mecanismo de concentração urinária, tendo a mutação da AQP 2 aparente contribuição na gênese do diabetes insípido nefrogênico.<sup>(11)</sup> Em camundongos estudos têm mostrado participação destas proteínas na fisiologia de diversos tecidos como trato respiratório (AQP 1,3-5)<sup>(15)</sup>, músculo esquelético (AQP 4), glândulas salivares (AQP 5), epitélio ciliar dos olhos (AQP 1)<sup>(11)</sup> e trato gastrointestinal (AQP1, 3, 7, 10 e 11 em todo o intestino e AQP 4 e 8 especificamente no estômago e cólon).<sup>(16)</sup>

No sistema nervoso central (SNC) essas proteínas têm sido um foco de estudo importante neste campo de pesquisa. É estabelecida a presença de seis isoformas de AQPs (AQP 1, 3, 4, 5, 8 e 9) identificadas em células do plexo coróide (AQP 1), astrócitos (AQP 1, 3, 4, 5, 8, 9), oligodendrócitos (AQP 8), neurônios (AQP 1, 5, 8), tanicitos (AQP9) e células ependimárias (AQP 1, 4, 9).<sup>(17)</sup> Dentre as AQPs mais estudadas neste compartimento, a AQP1 tem sido encontrada de forma abundante no epitélio do plexo coróide, responsável pela produção do líquido. Já a AQP4 expressa nos astrócitos tem especificidade na regulação do conteúdo de água tecidual e trânsito do íon potássio, sendo apontada como uma das responsáveis pela formação e resolução do edema cerebral.<sup>(18,19)</sup>

No sistema nervoso periférico (SNP), pouco se sabe da expressão e da função das AQPs. Até o momento foram identificadas três AQPs (AQP 1, 2 e 4), localizados em neurônios, células satélites e células da glia em diversos tecidos como gânglio trigeminal (AQP 1 e 2), terminações nervosas do ligamento periodontal (AQP 1), gânglio da raiz dorsal (AQP 1 e 2), sistema nervoso entérico (AQP 1 e 4), gânglio pancreático (AQP 1), órgão vomeronasal (AQP 4), nervo ciático (AQP 1) e nervo facial (AQP 1 e 2).<sup>(20-23)</sup> Observa-se que a modificação do gradiente osmótico e a redistribuição da água entre os compartimentos intracelular e extracelular podem contribuir para mecanismos de resposta a processos nociceptivos<sup>(9)</sup>, ativação da inflamação e edema presente nesses tecidos.<sup>(9,20)</sup> Esses achados permitem entender a fisiopatologia de algumas alterações no sistema nervoso relacionados com as AQPs, como por exemplo a paralisia facial. E futuramente, contribuir para o estudo molecular de medicamentos que agiriam na inibição da expressão dessas proteínas.

## 2 | OBJETIVO

Descrever a expressão e a localização histológica da AQP 2 no nervo facial de ratos, após indução à paralisia pela compressão temporária da sua porção extratemporal.

## 3 | REVISÃO DA LITERATURA

A AQP 2 foi inicialmente descrita na década de 1990 e identificada no ducto coletor e túbulo coletor dos néfrons.<sup>(24,25)</sup> Dentro das células foi encontrada em vesículas intracelulares e na membrana apical, recebendo influência da vasopressina, responsável pela concentração urinária, e por isso, envolvida em diversas doenças como diabetes insípido nefrogênico, poliúria pós-obstrutiva e doença renal. Por muito tempo, a presença da AQP 2 era apontada como exclusiva do tecido renal, porém ao longo dos anos encontrou-se sua presença também em outros tecidos como trato reprodutivo<sup>(26)</sup> e orelha interna.<sup>(27)</sup> Corroborando com os dados da literatura, Mobasheri e colaboradores descreveram a presença da AQP 2 nos ductos coletores do córtex e da medula renal, ilhas pancreáticas, trompa de falópio e células do trato gastrointestinal e foram os primeiros a descrever essa proteína no SNP e SNC (células ependimárias, substância branca subcortical, hipocampo e medula espinal).<sup>(28)</sup>

No SNP, estudos experimentais de Borsani e colaboradores sobre transmissão da dor inflamatória aguda, observaram a expressão da AQP 2 em citoplasma e membrana celular de neurônios, células de Schwann e células satélites no gânglio trigeminal após estímulo perioral em camundongos.<sup>(29)</sup> Em outro modelo experimental, Buffoli e colaboradores observaram no gânglio da raiz dorsal a presença da AQP 2 no citoplasma de neurônios e em células de Schwann, além da sua presença em pequenos vasos após trauma crônico no nervo ciático, contribuindo para elucidação dos mecanismos da dor neuropática crônica.<sup>(30)</sup> Estes últimos autores, porém, não encontraram a presença da AQP 2 na medula espinal, como havia sido descrito anteriormente.<sup>(28)</sup>

A semelhança do encontrado nesses tecidos do SNP, modelos experimentais parecem sugerir uma participação direta das AQPs (AQP 1 e 2) no edema do nervo facial, contribuindo como uma potencial ferramenta para a modulação dos mecanismos envolvidos na Paralisia de Bell e outras doenças com comprometimento da função deste nervo (Síndrome de Ramsay Hunt, Síndrome de Melkersson-Rosenthal, Paralisia Facial Traumática, etc.).<sup>(20,22,31)</sup>

Os primeiros autores que estudaram AQPs no nervo facial foram Zhang e colaboradores em 2013.<sup>(20)</sup> Eles confirmaram a presença dessa proteína nas células

de Schwann e correlacionaram a expressão da AQP 1 na progressão do edema celular induzido por hipoxemia em cultura de células de Schwann extraídas do nervo facial de camundongos. Os mesmos autores, recentemente, apresentaram uma correlação positiva entre a expressão de AQP 1, o grau de paralisia facial e o aumento do volume do nervo facial (edema neural), induzido pela infecção do HSV na porção intratemporal do nervo facial de camundongos. Foi possível também descrever os locais de maior concentração de AQP 1 no nervo facial: células de Schwann, epineuro e células perivasculares.<sup>(31)</sup>

Em paralelo, Neiva e colaboradores induziram a paralisia facial pela compressão da porção extratemporal do nervo facial e pela técnica de *Western Blot* (WB) confirmaram a presença da AQP 2 nesta porção do nervo. Observaram que o pico de expressão após trauma neural foi nas primeiras 24 h do procedimento cirúrgico.<sup>(22)</sup> Esta proteína poderia estar relacionada ao processo inflamatório encontrado no edema do nervo, porém, informações detalhadas sobre sua localização (tipo celular do tronco extratemporal do nervo facial) e regulação ainda não foram demonstradas na literatura.

## 4 | MÉTODOS

### 4.1 Seleção dos animais e procedimento cirúrgico

O estudo descritivo e experimental foi realizado nos Departamentos de Fisiologia (Disciplina Neurofisiologia) e Patologia com cooperação do Departamento de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina. O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA 1696281215 da UNIFESP (Anexo 1) cumprindo todas as normas técnicas e de biossegurança específicas para estudos experimentais.

Foram utilizados no estudo cinco ratos machos Wistar (idade aproximada de três meses) mantidos em biotério em caixa coletiva (cinco animais), sob ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso a comida e água, em ambiente climatizado.

Todos animais foram submetidos a um procedimento cirúrgico no dia zero (D0) do experimento, sob anestesia intraperitoneal. Dois cirurgiões realizaram as cirurgias sob supervisão de uma única pessoa, com duração média de 15 minutos cada procedimento. Em quatro ratos foi realizada a dissecação do nervo facial direito e sua compressão transitória padronizada (grupo LESÃO) e em um rato foi realizada somente a dissecação de pele e tecido subcutâneo na região retroauricular à direita (grupo SHAM). A dissecação do segmento extratemporal do nervo facial foi feita com auxílio do microscópio cirúrgico DF-Vasconcelos® M90 e utilizada a

técnica padronizada por Borin e colaboradores (Figura 1).<sup>(32,33)</sup> Os passos cirúrgicos do grupo LESÃO estão descritos a seguir:

1. Anestesia intraperitoneal com xilazina 10mg/kg e quetamina 90mg/kg;
2. Tricotomia retroauricular direita;
3. Incisão vertical retroauricular direita interessando pele, subcutâneo e platísmo;
4. Dissecção roma e identificação da margem tendinosa do músculo clavotrapeziano, do tronco e da bifurcação do nervo facial direito e da veia jugular externa;
5. Compressão transitória do tronco extratemporal com *clamp* metálico por cinco minutos à aproximadamente 3 mm de sua emergência (entre margem tendinosa do clavotrapeziano e veia jugular externa);
6. Fechamento da pele e subcutâneo em pontos separados com nylon 4-0;
7. Confirmação da paralisia facial periférica pela ausência do reflexo de piscamento e do movimento das vibrissas.

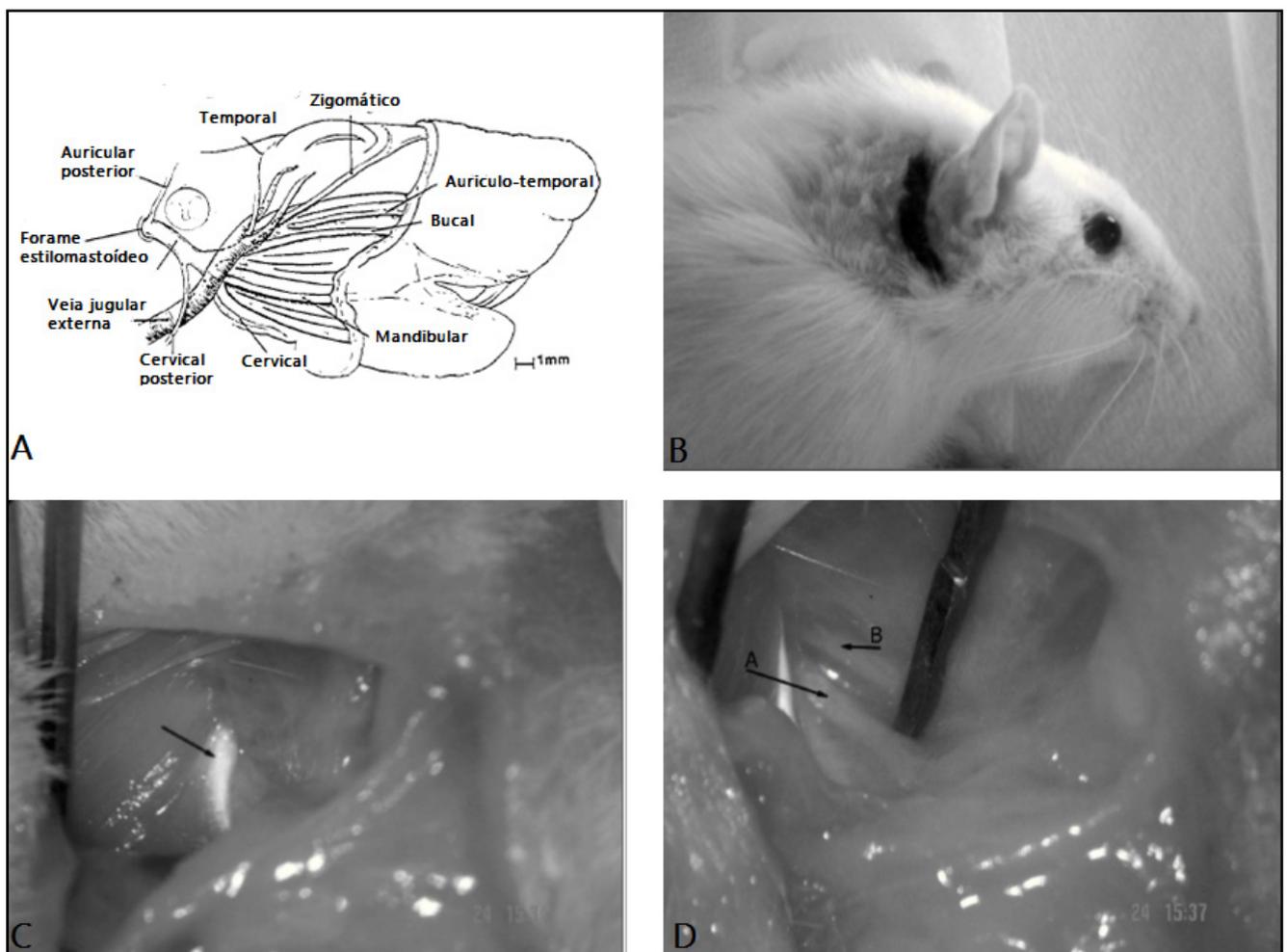


Figura 1. Dissecção do nervo facial em ratos. A – Anatomia da porção extratemporal do nervo facial de ratos. B – Incisão retroauricular na pele e tecido subcutâneo à direita. C – Tendão do músculo clavotrapeziano (seta). D – Tronco principal do nervo facial porção extratemporal (seta A) e nervo auricular posterior (seta B).

Fonte: Figura A - Adaptado de Mattox DE, Felix H. Surgical Anatomy of the Rat Facial Nerve. The American

O rato do grupo SHAM foi submetido aos mesmos passos cirúrgicos, até a dissecação de pele e tecido subcutâneo (1-3), e em seguida realizado o fechamento destas estruturas com nylon 4-0.

Em todos os animais foi administrado analgésico e antibiótico no pós-operatório e mantiveram alojados em gaiola com livre oferta de alimentos.

No dia seguinte (dia um – D1), foi confirmada clinicamente paralisia facial à direita nos Ratos 1-4 e ausência de paralisia facial no Rato 5. Os cinco animais foram novamente anestesiados (anestésicos xilazina e quetamina) por via intraperitoneal, com a sequência semelhante ao primeiro dia do experimento. Foi realizada incisão retroauricular bilateral com dissecação do nervo facial seguindo os passos descritos anteriormente e removido cerca de 3 a 8 mm do seguimento do tronco extratemporal de ambos nervos (direito e esquerdo). Os nervos faciais direito foram intitulados L (LESÃO) ou S (SHAM), de acordo com o tipo de procedimento, e os nervos faciais esquerdo intitulado C (CONTROLE), protocolo explicitado no Quadro 2.

Após procedimento cirúrgico, os animais foram sacrificados com altas doses de uretana 4%, dose 1,2g/kg via intraperitoneal, sendo sua manipulação realizada dentro de uma capela com a utilização de EPI. O descarte da carcaça foi realizado em lixo biológico.

GRUPO	DIA DO EXPERIMENTO			
	D0		D1	
LESÃO	<b>LADO DIREITO</b>	<b>LADO ESQUERDO</b>	<b>LADO DIREITO</b>	<b>LADO ESQUERDO</b>
RATO 1	COMPRESSÃO NERVO FACIAL	-	REMOÇÃO FRAGMENTO (L1)	REMOÇÃO FRAGMENTO (C1)
RATO 2	COMPRESSÃO NERVO FACIAL	-	REMOÇÃO FRAGMENTO (L2)	REMOÇÃO FRAGMENTO (C2)
RATO 3	COMPRESSÃO NERVO FACIAL	-	REMOÇÃO FRAGMENTO (L3)	REMOÇÃO FRAGMENTO (C3)
RATO 4	COMPRESSÃO NERVO FACIAL	-	REMOÇÃO FRAGMENTO (L4)	REMOÇÃO FRAGMENTO (C4)
SHAM				
RATO 5	DISSECAÇÃO PELE E SUBCUTÂNEO	-	REMOÇÃO FRAGMENTO (S1)	REMOÇÃO FRAGMENTO (SC1)

Quadro 2. Procedimentos cirúrgicos entre os grupos e respectivas lateralidades.

Nota. D0 – Dia zero do experimento; D1 – Dia um do experimento.

## 4.2 Processamento do material

Após extração dos fragmentos do nervo facial, as dez amostras foram fixadas durante 48h em solução de formaldeído tamponado a 10% com volume 20 vezes o tamanho da amostra.

Para serem incluídas em parafina as amostras sofreram as seguintes operações: desidratação, diafanização, impregnação em parafina e inclusão no bloco. A desidratação foi realizada com quatro banhos de álcool absoluto por 10 minutos cada; diafanização com quatro banhos de xilol por 20 minutos cada; impregnação com parafina aquecida a 58-60° duas vezes de 20 minutos. Para inclusão no bloco, o material foi colocado em uma forma de ferro fundido (Leuckaart) junto com parafina e, após secagem, as peças foram cortadas com espessura de cinco micrometros no plano axial do nervo facial.

Todos os procedimentos acima foram realizados por um único técnico de laboratório experiente em processamento de material em parafina.

## 4.3 Coloração e imuno-histoquímica

Uma lâmina para cada nervo facial foi corada em hematoxilina eosina (HE) e o restante processado para imuno-histoquímica (IHQ) pelo método estreptavidina-biotina-peroxidase (ABC).

De acordo com as instruções dos laboratórios foi realizado o seguinte protocolo para IHQ:

1. Dissolução da parafina na coifa em temperatura aproximada 58-60°;
2. Reidratação das amostras em baterias de álcool;
3. Lavagem com solução PBS (solução salina tamponada com fosfato) por cinco minutos;
4. Recuperação antigênica HIER (*Heat Induced Epitopal Retrieval*) com tampão de citrato pH 6,0 por 20 minutos, com intuito de desfazer as pontes de metileno para melhor acesso do anticorpo ao tecido;
5. Bloqueio de peroxidase endógena com solução de peróxido de hidrogênio 3% por 20 minutos (quatro banhos de cinco minutos);
6. Imersão em água destilada por dois minutos;
7. Lavagem com solução PBS por cinco minutos;
8. Incubação do anticorpo primário policlonal anti-AQP 2 (Abcam15116®), na titulação 1:100, pernitando a uma temperatura de 4°C;
9. No dia seguinte, realizado banhos com solução PBS por 20 minutos (quatro banhos de cinco minutos);
10. Incubação do anticorpo secundário anti-coelho IgG (Vector BA1000®), na titulação 1:200, por 30 minutos;

11. Banhos com solução PBS por 20 minutos (quatro banhos de cinco minutos);
12. Administração do kit ABC (Vectastain®) por 30 minutos;
13. Aplicação do cromógeno 3,3'-diaminobenzadina (DAB-Dako®) na diluição 1 gota para 2 ml de água destilada por três minutos;
14. Contracoloração com hematoxilina de Harris;
15. Desidratação em álcool;
16. Banhos de xilol;
17. Montagem em resina Entellan.

Para cada reação de IHQ foi realizada uma amostra de controle negativo da reação (protocolo semelhante exceto pela não incubação do anticorpo primário) e um controle positivo da reação (protocolo semelhante em amostra de rim do mesmo animal), ambos para confirmar a validade do estudo.

Todas as lâminas foram analisadas em microscópio LEICA ICC50 HD no aumento de 40X e 10X e fotografadas através de câmera acoplada ao equipamento.

#### 4.4 Análise qualitativa

Todas as lâminas do nervo facial coradas em HE foram avaliadas de acordo com o aspecto morfológico dos seus componentes (epineuro, perineuro e endoneuro), situação dos feixes nervosos e das células presentes no tecido.

As lâminas após IHQ foram avaliadas quando a positividade da marcação do anticorpo anti-AQP 2 no tecido, locais prioritários e intensidade da marcação através da comparação com controle positivo da reação (rim do animal) e aos nervos controles correspondentes.

#### 4.5 Análise estatística

Foi feita contagem das células marcadas com o anticorpo anti-AQP 2 em proximidade direta dos feixes nervosos. Devido sua localização e características (íntima relação com os axônios para a formação da bainha de mielina), foram identificadas como sendo as células de Schwann presentes no nervo. Foram contadas as células de Schwann que possuíam núcleo e coloração do cromógeno simultaneamente. Para cada nervo foi feita três contagens das células e realizada a média e desvio padrão.

Os valores de cada contagem foram comparados entre os grupos através do método ANOVA (One-way) e teste de comparação múltipla de Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando  $p \leq 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas com o programa Statistica 8.0 (SatSoft Inc., 2008, Tulsa, OK, USA).

## 5 | RESULTADOS

Pelo menos uma lâmina em HE e IHQ de cada rato foi fotografada e mostrada na sequência, com nomenclatura correspondendo ao protocolo já explicitado.

Em todos os cortes em parafina do nervo facial observaram-se fragmentação interna do nervo. Exceto o nervo C3, todos mantiveram a preservação das estruturas de sustentação do mesmo, perineuro e epineuro, mantendo o seu formato original. Em alguns cortes observou-se ramificações do nervo em menor tamanho, adjacente ao tronco principal. Para análise, foi levado em consideração o maior fragmento do nervo naquele corte. Foi observado também, em algumas lâminas, áreas de sobreposição da amostra, porém sem prejuízo importante da sua análise. A seguir as imagens em coloração HE e IHQ dos nervos (Figura 2).

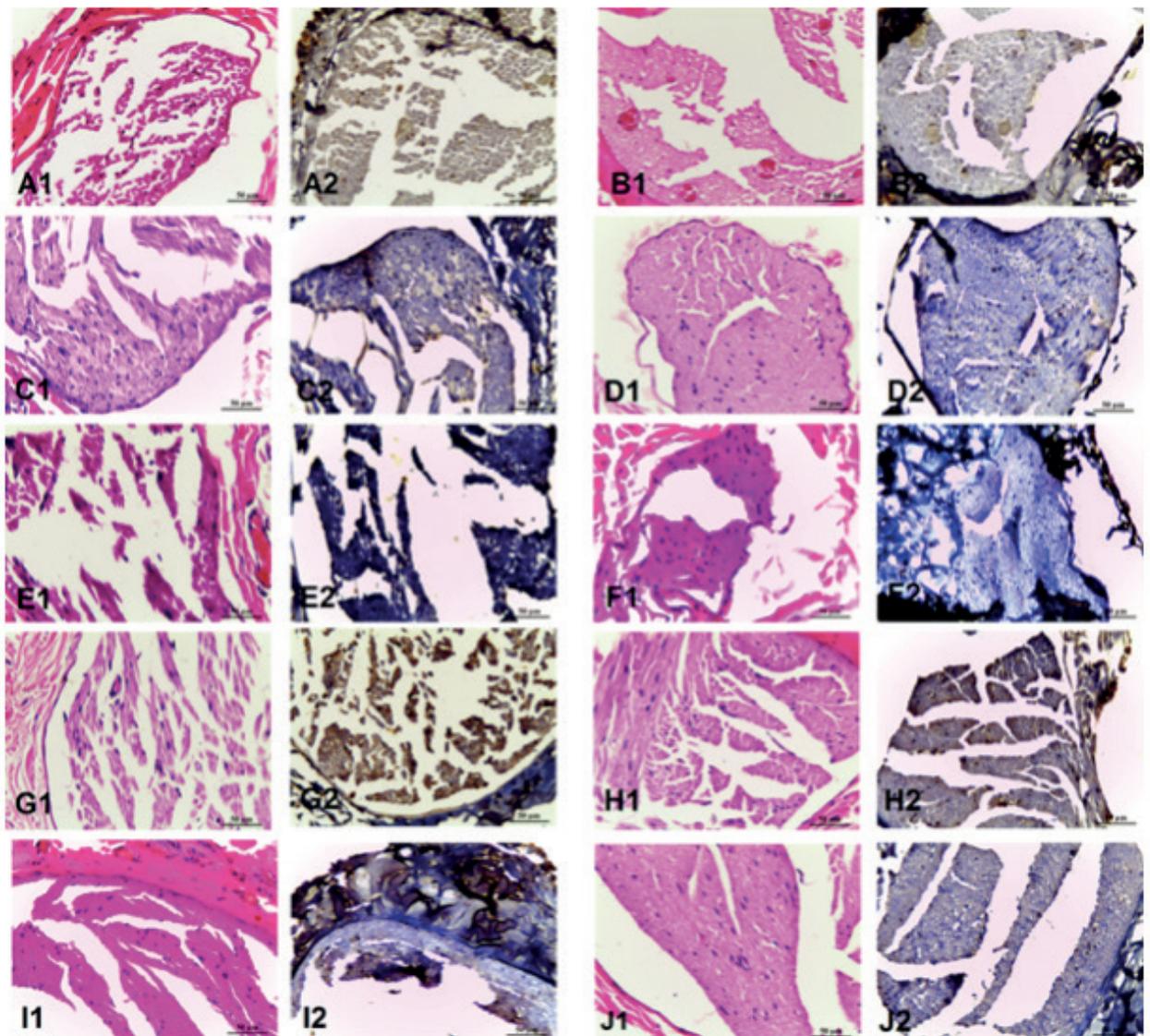


Figura 2. Cortes dos nervos com coloração HE (a esquerda) e IHQ (a direita) no aumento 40X. (A1) e (A2) correspondem ao fragmento L1. (B1) e (B2) correspondem ao fragmento C1. (C1) e (C2) correspondem ao fragmento L2. (D1) e (D2) correspondem ao fragmento C2. (E1) e (E2) correspondem ao fragmento L3. (F1) e (F2) correspondem ao fragmento C3. (G1) e (G2) correspondem ao fragmento L4. (H1) e (H2) correspondem ao fragmento C4. (I1) e (I2) correspondem ao fragmento S1. (J1) e (J2) correspondem ao fragmento SC1.

Observou-se degeneração walleriana, compreendida pela fragmentação dos axônios, em 40% dos nervos (C1, L2, L4 e C4). Estes achados foram mais evidentes nos cortes com coloração HE, visto nas Figuras 3-6.

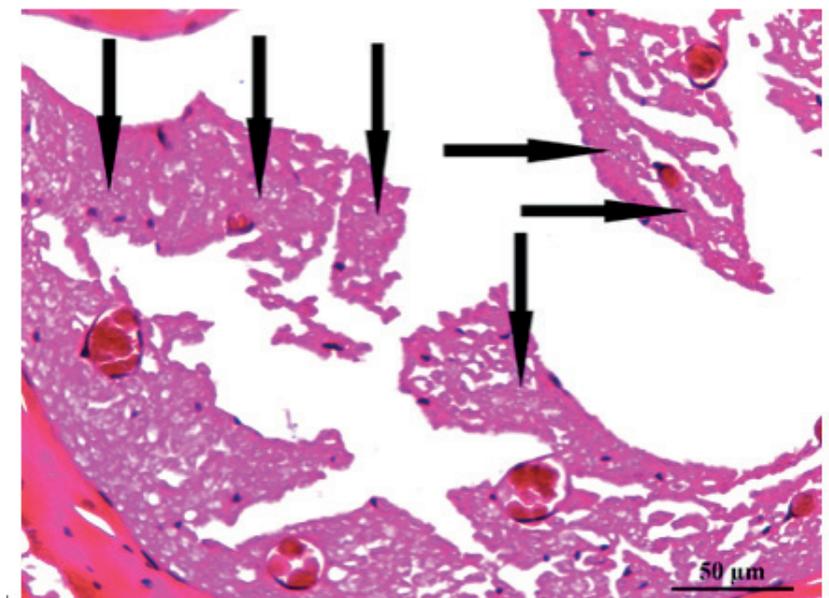


Figura 3. Corte de C1 em HE. Observam-se, nas setas apontadas, áreas difusas de vacuolização e degeneração do axônio (aumento 40X).

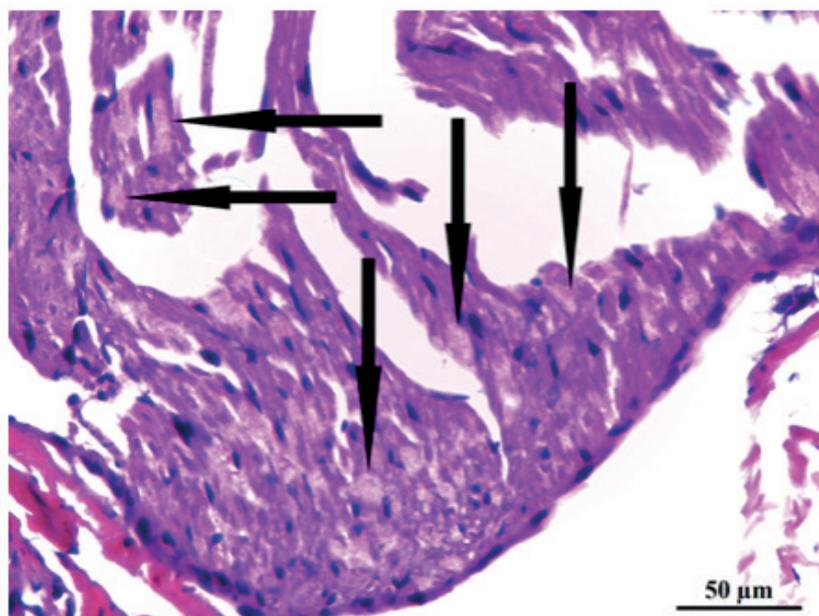


Figura 4. Corte de L2 em HE. Nas setas apontam-se degeneração walleriana com vacuolização dos axônios (aumento 40X).

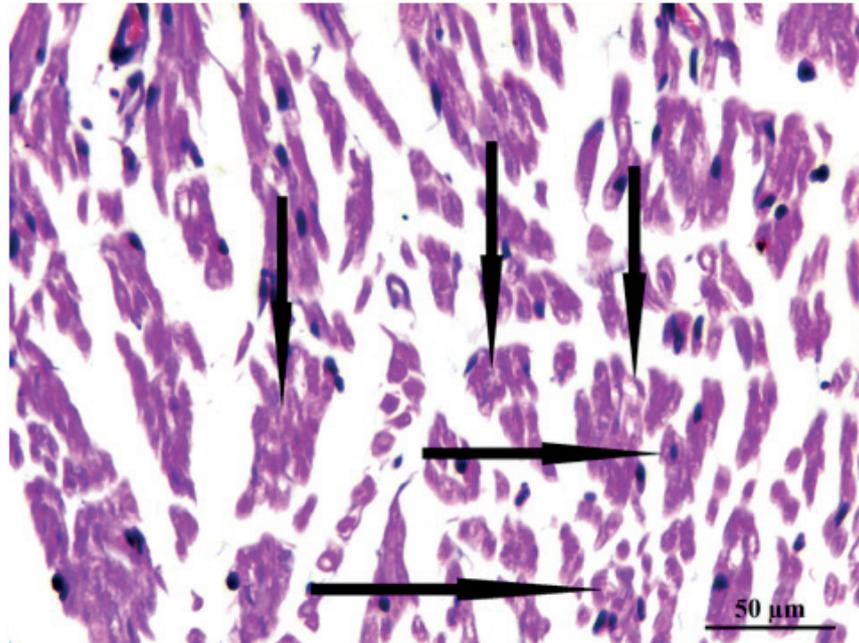


Figura 5. Corte de L4 em HE. Observa-se nas pontas das setas perda da arquitetura dos axônios e das células de Schwann (aumento 40X).

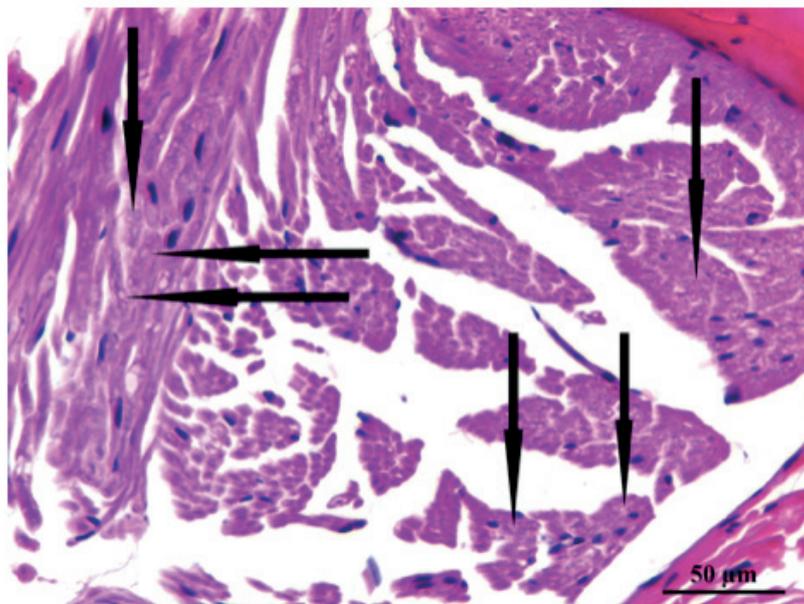


Figura 6. Corte de C4 em HE. As setas apontam para áreas de vacuolização dos feixes nervosos (aumento 40X).

Com relação a IHQ, o anticorpo anti-AQP 2 foi testado no rim dos ratos e confirmado a positividade da reação (controle positivo da reação) como mostrada na Figura 7. A marcação do anticorpo (coloração em marrom) foi mais evidente nos ductos coletores do rim do animal e especificamente na membrana plasmática e citoplasma das células.

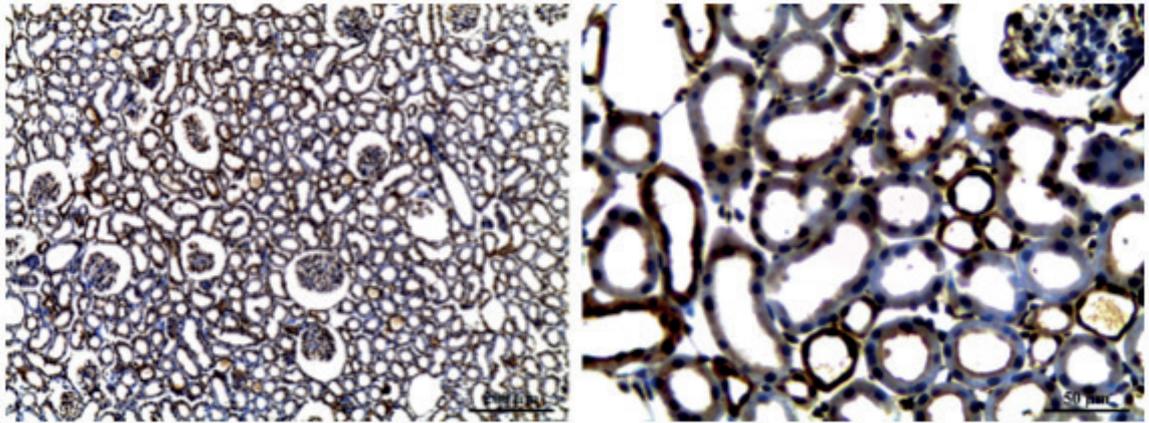


Figura 7. Controle positivo da reação. Corte do rim no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

O controle negativo da reação foi realizado para cada nervo correspondente, confirmando a ausência de marcação do cromógeno no tecido (Figura 8), minimizando a possibilidade de reação inespecífica ao anticorpo. Apesar de não ter tido marcação nos axônios e em outras células, em algumas lâminas foi observado marcação em vasos dentro e fora do nervo.

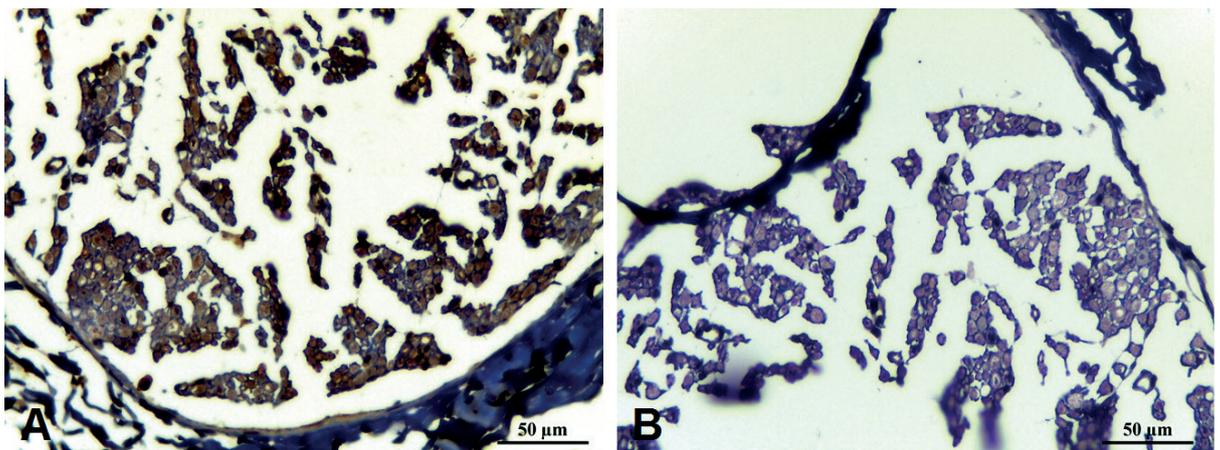


Figura 8. Controle negativo da reação. Corte L4 aumento 40X – A (esquerda) realizada incubação de anticorpo primário; B (direita) não realizada incubação do anticorpo primário (controle negativo).

Todos os dez fragmentos de nervo facial apresentaram positividade para o anticorpo anti-AQP 2. Foi observada em alguns nervos a marcação do anticorpo no tecido conjuntivo do epineuro. Esta marcação foi inconstante, ocorrendo em vasos sanguíneos e células extravasculares. Como o epineuro não estava presente em todas as amostras, não foi possível concluir a caracterização da expressão da AQP 2 nesta região. A Figura 9 mostra o aspecto morfológico do nervo facial com as estruturas do perineuro e epineuro e suas marcações do anticorpo anti-AQP 2.

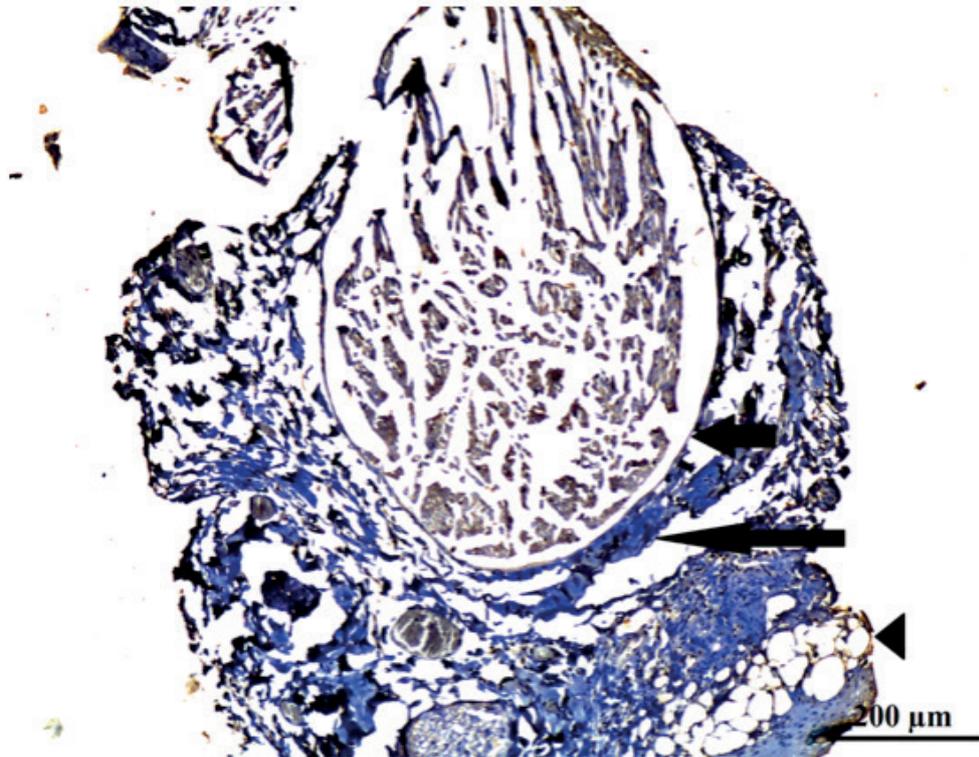


Figura 9. Aspecto morfológico do nervo facial em corte transversal (L4). Seta espessa e curta – Perineuro; Seta fina e longa – Epineuro; Cabeça de seta – marcação do anticorpo anti-AQP 2 em tecido conjuntivo do epineuro (aumento 10X).

A marcação da AQP 2 dentro do nervo facial foi observada com maior intensidade em células de Schwann, células perivasculares (endotélio) e dentro dos vasos sanguíneos. Em menor intensidade, foi observada no citoplasma dos axônios e das células do perineuro. A marcação do anticorpo anti-AQP 2 em todas as situações foi predominantemente citoplasmática, não podendo, na maioria dos casos, afastar a marcação na membrana plasmática dessas células (Figuras 10 e 11).

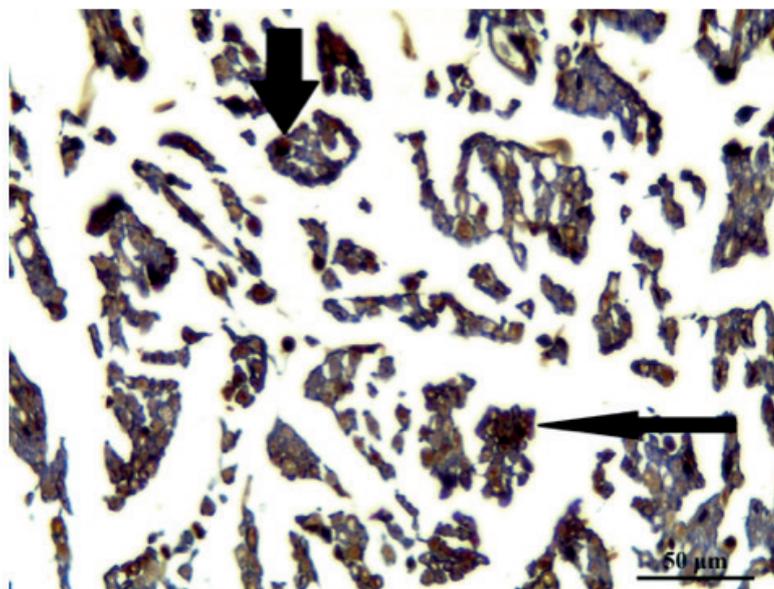


Figura 10. Marcação do anticorpo em células de Schwann e axônios. Seta espessa e curta mostra célula de Schwann com marcação em seu citoplasma. Seta fina e longa mostra conjunto de feixes nervosos com marcação dentro do seu citoplasma (aumento 40X).

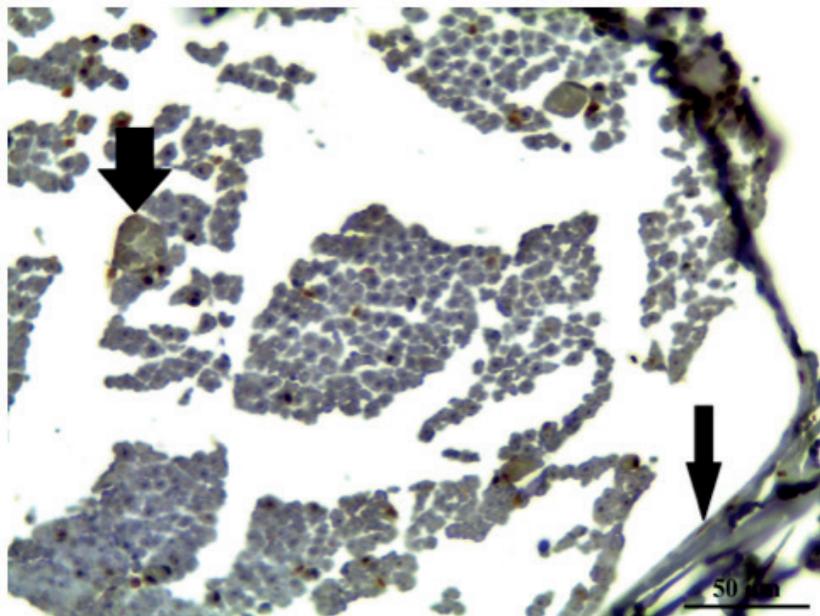


Figura 11. Marcação do anticorpo em vaso sanguíneo e perineuro. Seta espessa e curta mostra vaso sanguíneo com marcação no seu interior e nas células do endotélio. Seta fina e longa mostra marcação em célula do perineuro.

A contagem das células de Schwann relevou uma média de  $21,8 \pm 10$  células positivamente marcadas para a AQP 2 no lado direito (LESÃO e SHAM) e  $15,9 \pm 5,1$  de células positivas para os nervos do lado esquerdo (CONTROLES). Nos nervos a direita, o L4 foi que teve maior número de células de Schwann positivas, em contrapartida nos nervos a esquerda, C1 que teve maior contagem. A contagem de células foi sempre maior no nervo direito comparado ao esquerdo, exceto no rato SHAM em que o número de células de Schwann positivas foi o dobro no nervo controle. Esse fato ocorreu devido a fragmentação e perda de tecido no centro do nervo S1, diminuindo a contagem global das células. Abaixo, Tabela 1 com os resultados da contagem de células de Schwann positivas.

CONTAGEM DAS CÉLULAS DE SCHWANN IMUNOMARCADAS			
NERVO FACIAL DIREITO	MÉDIA DA CONTAGEM DE CADA NERVO E DP	NERVO FACIAL ESQUERDO	MÉDIA DA CONTAGEM DE CADA NERVO E DP
L1	$28,7 \pm 1,5$	C1	$23 \pm 2$
L2	$29 \pm 11,4$	C2	$16 \pm 1$
L3	$15,9 \pm 1,5$	C3	$7,3 \pm 1,2$
L4	$33 \pm 1$	C4	17
S1	$8,7 \pm 2,5$	SC1	$18 \pm 3,5$
<b>MÉDIA GERAL E DP</b>	<b><math>21,8 \pm 10</math></b>	<b>MÉDIA GERAL E DP</b>	<b><math>15,9 \pm 5,1</math></b>

Tabela 1. Contagem de células de Schwann positivas para a marcação da AQP 2 em cada nervo facial.

Nota. DP – Desvio Padrão.

A comparação entre nervos submetidos a intervenção (LESÃO ou SHAM) e seu respectivo controle mostrou uma significância estatística ( $p < 0,05$ ) somente entre os nervos L2-C2 e L4-C4. Quando comparado os nervos do grupo LESÃO com nervo do grupo SHAM foi observado significância estatística entre L1, L2 e L4 com S1, tendo os nervos que sofreram lesão maior contagem comparado ao SHAM. Já quando foi comparado nervo controle do grupo LESÃO e controle do grupo SHAM, observou-se significância estatística com maior contagem no nervo SC1 comparado a C3. Este achado pode estar relacionado ao menor tamanho do nervo C3 comparado aos demais e por isso, menor contagem absoluta de células de Schwann. Estes resultados estão mostrados na Tabela 2 e 3.

<b>CONTAGEM DAS CÉLULAS DE SCHWANN IMUNOMARCADAS</b>					
<b>COMPARAÇÕES ENTRE NERVOS</b>			<b>p (&lt;0,05)</b>	<b>IC MÍNIMO (95%)</b>	<b>IC MÁXIMO (95%)</b>
L1	X	C1	NÃO	-4,406	15,74
L2	X	C2	SIM	5,11	22,56
L3	X	C3	NÃO	-0,2231	17,22
L4	X	C4	SIM	5,927	26,07
S1	X	SC1	NÃO	-19,41	0,7392

Tabela 2. Comparação entre contagem das células de Schwann imunomarcadas dos nervos faciais direito e esquerdo de cada animal.

Nota. IC – Intervalo de Confiança em 95% das chances.

<b>CONTAGEM DAS CÉLULAS DE SCHWANN IMUNOMARCADAS</b>					
<b>COMPARAÇÕES ENTRE NERVOS</b>			<b>p (&lt;0,05)</b>	<b>IC MÍNIMO (95%)</b>	<b>IC MÁXIMO (95%)</b>
L1	X	S1	SIM	9,927	30,07
L2	X	S1	SIM	10,26	30,41
L3	X	S1	NÃO	-1,556	15,89
L4	X	S1	SIM	14,26	34,41
C1	X	SC1	NÃO	-5,073	15,07
C2	X	SC1	NÃO	-11,56	5,89
C3	X	SC1	SIM	-20,74	-0,5941
C4	X	SC1	NÃO	-11,07	9,073

Tabela 3. Comparação entre contagem das células de Schwann imunomarcadas entre os nervos do grupo LESÃO e grupo SHAM.

Nota. IC – Intervalo de Confiança em 95% das chances.

Abaixo fotos dos nervos L1-L4 e S1 com respectivos nervos controles após IHQ. Percebe-se marcação do anticorpo em todos os nervos (Figura 12).

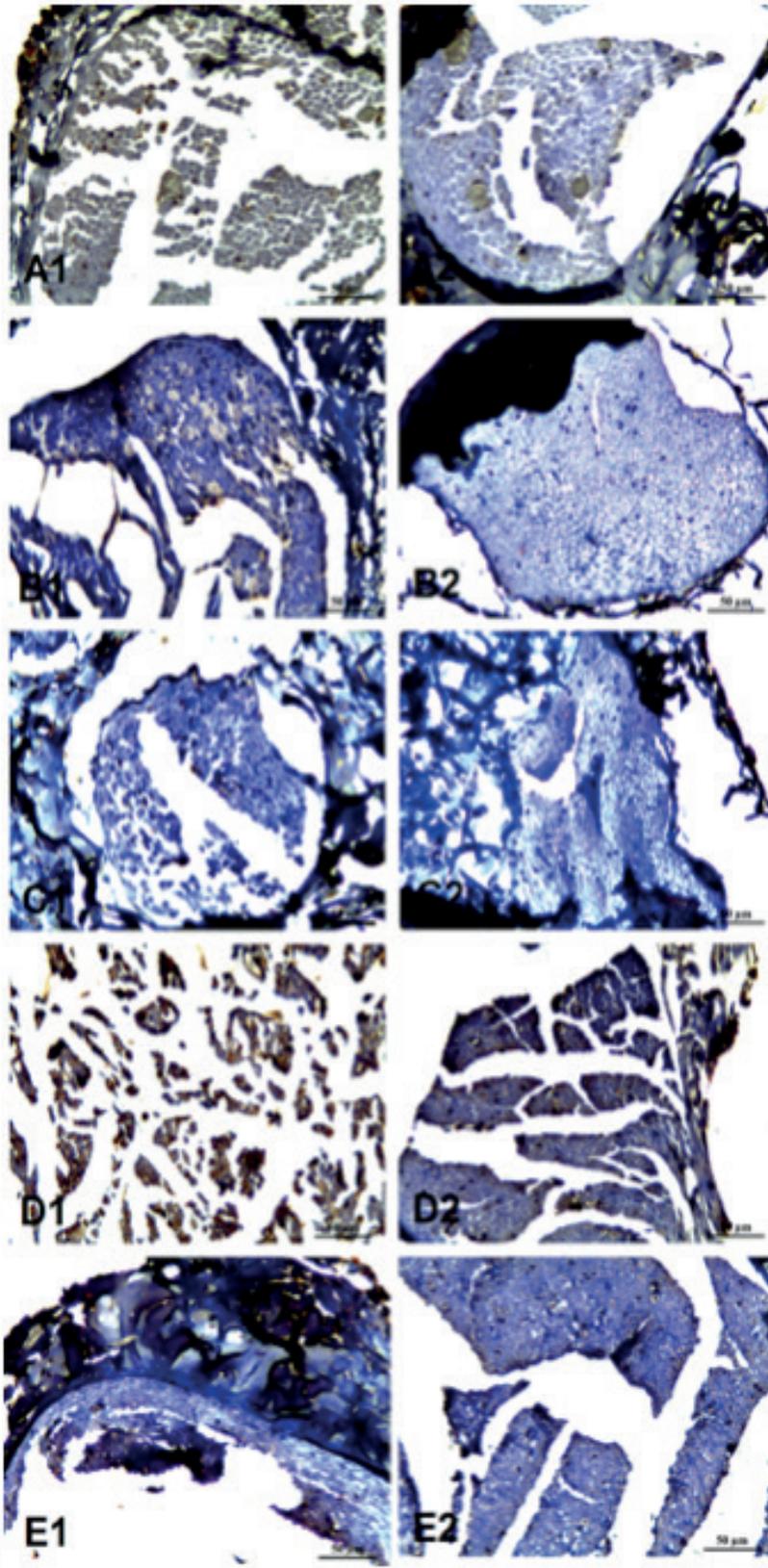


Figura 12. Cortes das laminas de IHQ do grupo lesão (L1-L4) e do grupo SHAM (S1) com respectivos controles (aumento 40X). Figura A1 – nervo L1; Figura A2 – nervo C1; Figura B1 – nervo L2; Figura B2 – nervo C2; Figura C1 – nervo L3; Figura C2 – nervo C3; Figura D1 – nervo L4; Figura D2 – nervo C4; Figura E1 – nervo S1; Figura E2 – nervo SC1.

Na sequência, aspecto morfológico de cada nervo facial após IHQ no pequeno e grande aumento (Figuras 13-22).

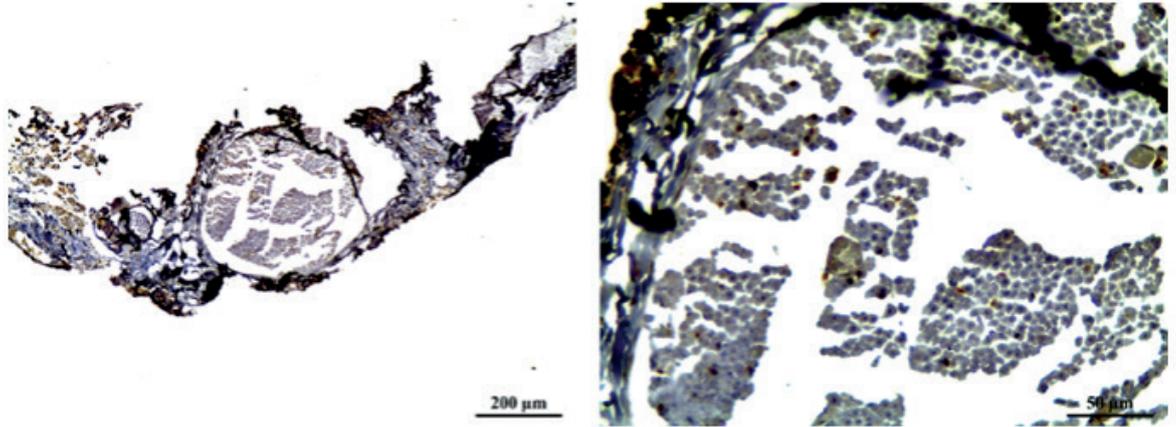


Figura 13. Corte de L1 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

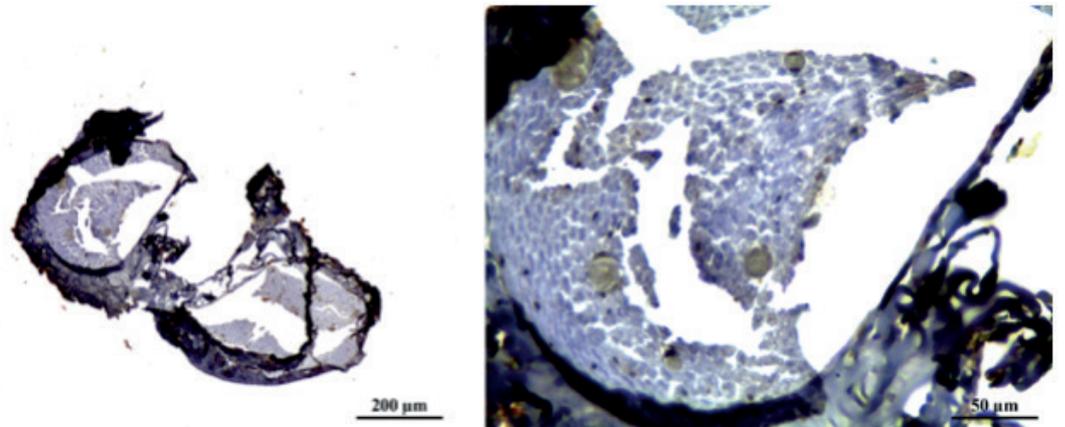


Figura 14. Corte de C1 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

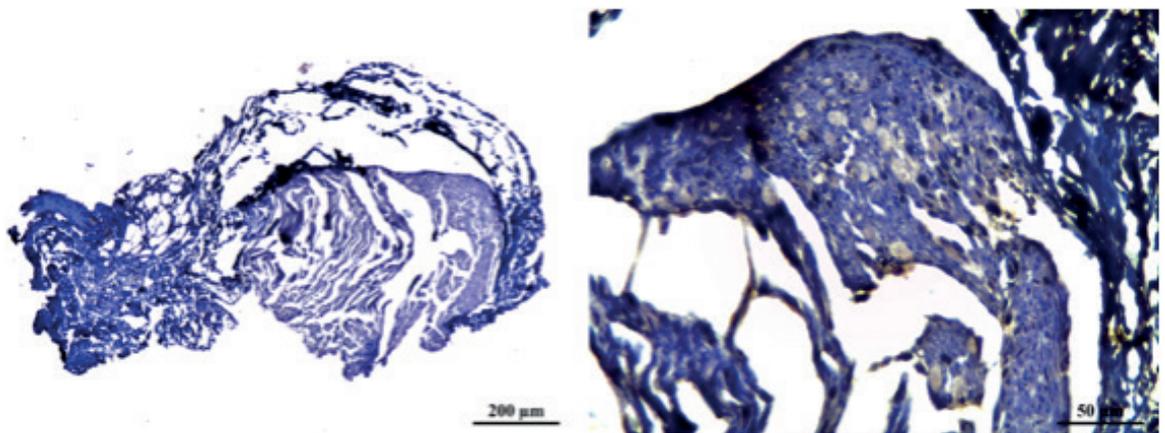


Figura 15. Corte L2 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

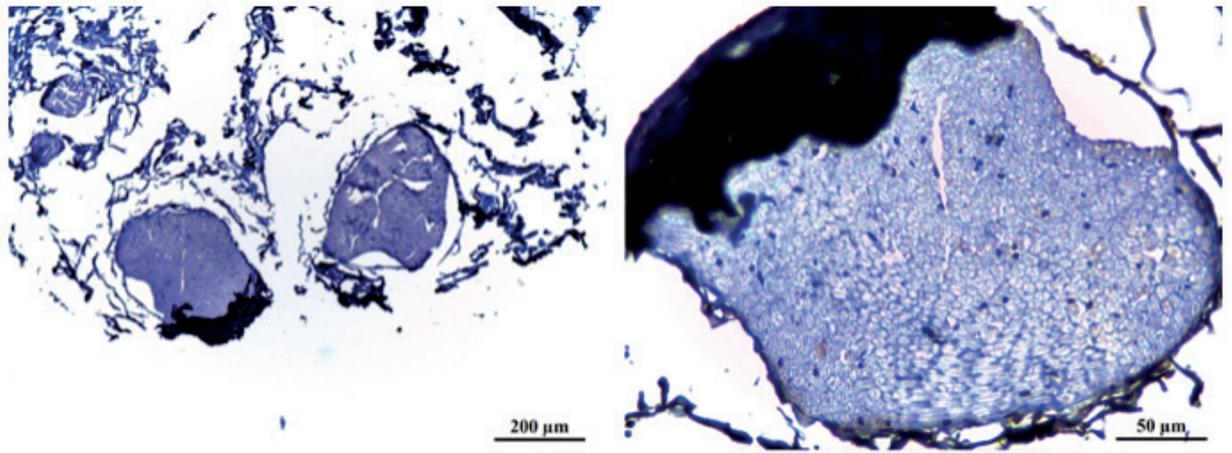


Figura 16. Corte de C2 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

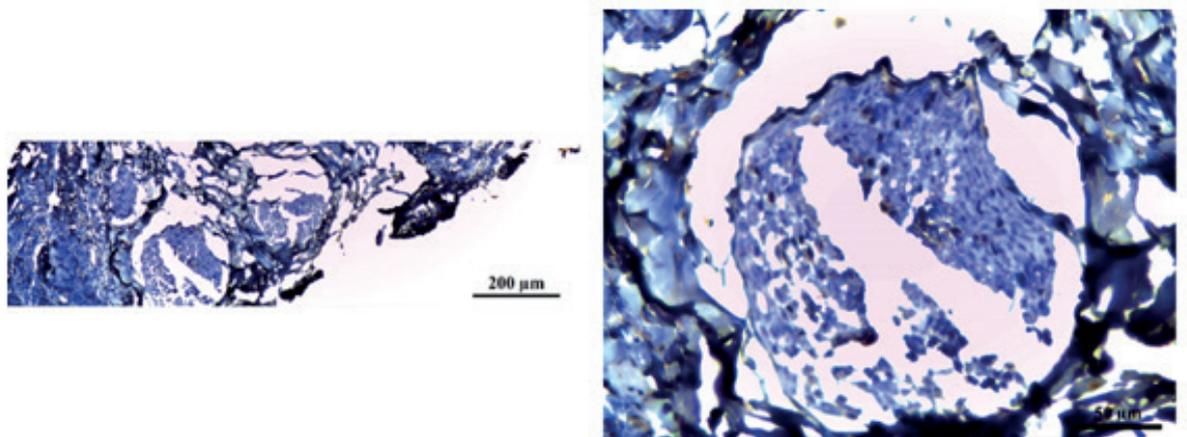


Figura 17. Corte de L3 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

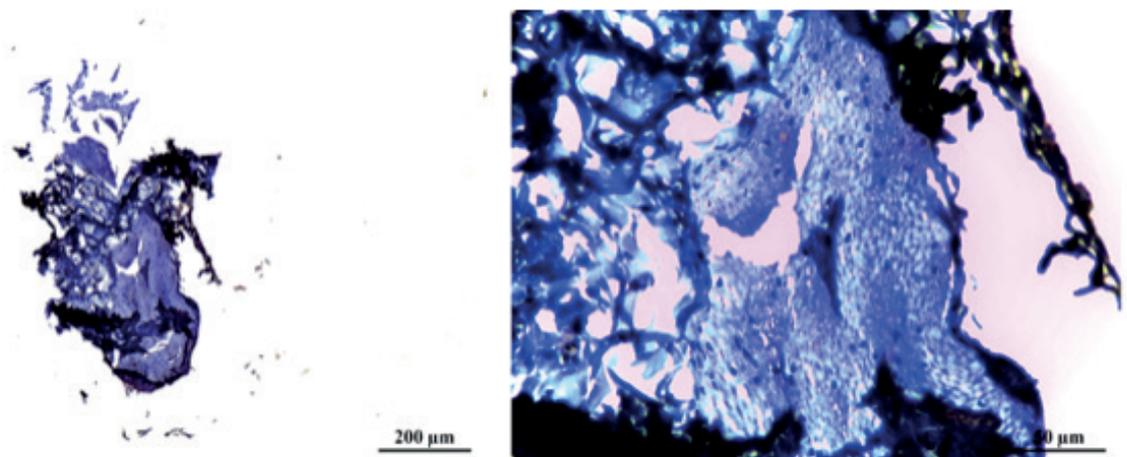


Figura 18. Corte de C3 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

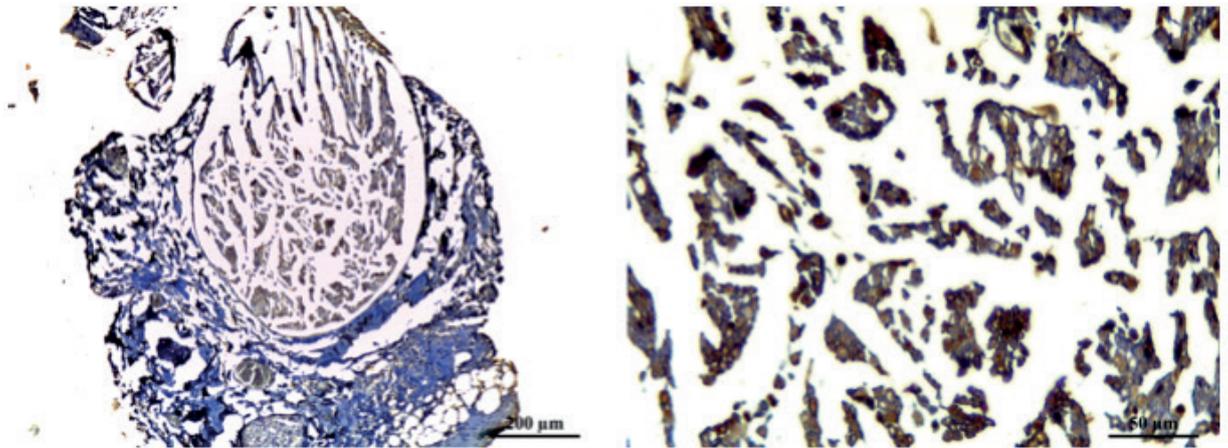


Figura 19. Corte de L4 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

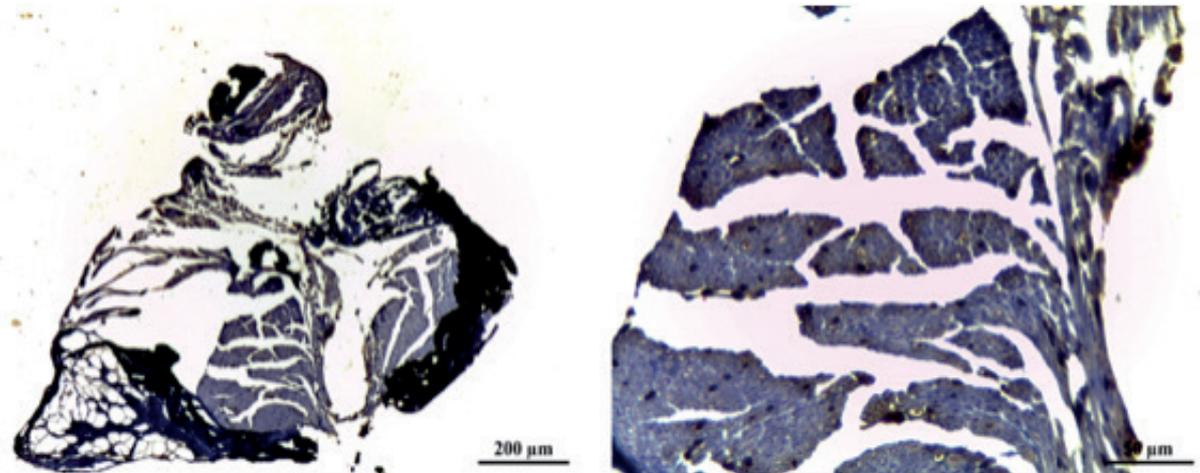


Figura 20. Corte de C4 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

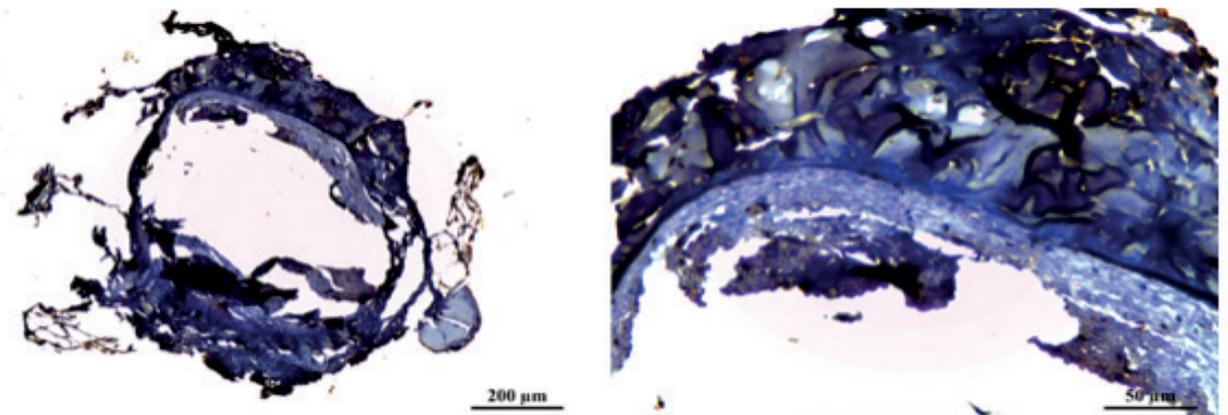


Figura 21. Corte de S1 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

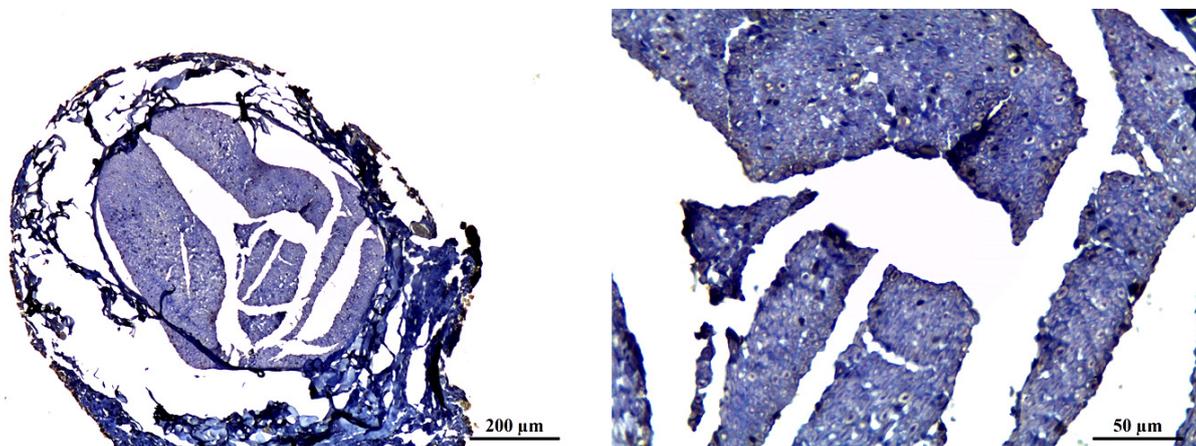


Figura 22. Corte de SC1 em IHQ no aumento 10X (esquerda) e 40X (direita).

## 6 | DISCUSSÃO

Vários estudos têm demonstrado funções fisiológicas da família das AQPs no SNC, porém poucos autores descreveram a presença destas proteínas no SNP. A primeira evidência de expressão da aquaporina no SNP foi feita por Matsumoto e colaboradores os quais detectaram a AQP 1 no gânglio trigeminal, desenvolvendo o conhecimento da localização celular, regulação e função desta proteína no SNP.<sup>(34)</sup> Desde essa descoberta, três das 13 AQPs foram encontradas no SNP (AQP 1, 2 e 4), localizados no gânglio trigeminal, terminações nervosas de Ruffini, gânglio da raiz dorsal, sistema nervoso entérico, gânglio pancreático, órgão vomeronasal, nervo ciático e mais recentemente, no nervo facial.<sup>(20-23)</sup> Esses achados têm contribuído para a elucidação de respostas celulares envolvidas em neuropatias periféricas.

No nervo facial, a primeira aquaporina identificada foi a AQP 1, que teve sua atuação comparada a AQP 4 no SNC, devido a sua expressão estar correlacionada ao controle da homeostase de água. A sua expressão já foi descrita por métodos de imunofluorescência (IF), WB e PCR, e parece influenciar na morfologia das células de Schwann e no edema do nervo, diminuindo a transmissão do sinal neural.<sup>(20,31)</sup>

A demonstração da presença da AQP 2 no nervo facial por Neiva e colaboradores<sup>(22)</sup> trouxe a possibilidade da AQP 2 exercer, no SNP, função correspondente a da AQP 4 no SNC. Esse estudo correlacionou o aumento de sua expressão, analisada pelo WB, com o maior grau da paralisia facial em ratos e mostrou uma diferença significativa entre a expressão da AQP 2 no lado submetido a compressão e o lado controle no 1º dia de avaliação, com declínio dos resultados nos 3º e 7º dias de avaliação. Por esse motivo, em nosso estudo, foi optado por remover o fragmento do nervo facial após 24h da intervenção, de forma a aumentar a sensibilidade de análise da AQP 2 pelo método de IHQ.

Apesar de todos os animais do presente estudo terem sido submetidos ao procedimento cirúrgico semelhante quanto a técnica e execução, foram observados

padrões diferentes de resposta ao trauma agudo. Alguns ratos reagiram a compressão ou dissecação do leito do nervo facial mais precocemente que os demais, com maior intensidade na marcação do anticorpo anti-AQP 2 (por exemplo, ratos 1 e 4) e/ou presença de sinais de degeneração do nervo (por exemplo, ratos 1, 2 e 4).

A degeneração walleriana, processo catabólico em que o axônio e a bainha de mielina começam a fragmentar-se e as células de Schwann a proliferar, assumindo o papel de fagócitos do material degenerado, ocorre horas logo após o insulto e geralmente se completa na segunda semana, acompanhado de regeneração das fibras nervosas.<sup>(33)</sup> No atual estudo foi observado degeneração walleriana em 40% da amostra, dois nervos que foram submetidos a lesão e dois nervos controles da lesão. Este achado mostra que a degeneração também ocorreu, surpreendentemente, em nervo contralateral a lesão, apesar de não ter sido identificada nenhuma paralisia facial à esquerda nos animais. Este resultado favorece a ideia de que talvez existam mecanismos centrais na resposta celular ao dano.

O aspecto morfológico do nervo facial encontrado no nosso estudo diferiu do descrito na literatura, em quem a coesão do nervo tem característica importante para a definição e diferenciação das estruturas neurais (endoneuro, perineuro e epineuro), das células de Schwann e axônios. Assim, acreditamos que a fragmentação do tecido neural, no presente estudo, possa ser considerada nosso principal viés. Essa fragmentação encontrada pode ter sido resultado de falha no processamento (fixação, desidratação, diafanização, impregnação e inclusão) ou dificuldade no manuseio do material, visto a pequena dimensão das amostras teciduais (3 a 8 mm). Uma outra possibilidade a ser considerada é que os banhos de xilol, capaz de promover uma dissolução da gordura, possam ter lesado a bainha de mielina, gerando uma imagem negativa desta estrutura na amostra. Para evitar este fenômeno, o material poderia alternativamente ser processado congelado ou montado em resina tipo Araldite®. Porém deu-se preferência a utilizar cortes incluídos em parafina, técnica na qual a equipe possuía maior experiência. Foi observado ainda, em alguns cortes, uma sobreposição de tecido, que pode ter ocorrido no momento da preparação das lamínas. Apesar disso nenhum nervo teve sua análise totalmente prejudicada.

Para validação da IHQ, os controles positivos e negativos da amostra foram usados e confirmados em todas as reações. Porém, observou-se em alguns nervos a marcação da AQP 2 dentro de vasos sanguíneos. Este achado não inviabilizou o resultado já que as células de Schwann, axônios e outras estruturas foram negativas para a reação. Pode ter sido resultado de uma inativação insuficiente de enzimas endógenas (peroxidase endógena) presentes nas hemácias ou mesmo pela presença da AQP 2 nos vasos e células perivasculares, como já relatados em estudos prévios.<sup>(29,30)</sup>

Todos os nervos estudados apresentaram positividade para a AQP 2 na IHQ,

independentemente do tipo de intervenção realizada e de qual lateralidade. Este dado leva a possibilidade de que a AQP 2 tem sua expressão continuada no tecido independente de estímulo, podendo aumentar sua função a determinados insultos. Este resultado confirma o achado de Neiva e colaboradores em que a expressão da AQP 2 por WB estava presente tanto no nervo submetido a lesão quanto no nervo controle.<sup>(22)</sup>

A expressão do anticorpo anti-AQP 2 em células de Schwann e citoplasma de neurônios (axônios), corroborou com encontrado no estudo de Borsani e colaboradores<sup>(29)</sup>. Neste estudo foi avaliado a AQP 2 através de IHQ após indução a dor inflamatória aguda pela injeção de solução salina ou formalina em gânglio trigeminal de camundongos. A proteína foi positiva no citoplasma e membrana plasmática de neurônios, ausente em células de Schwann e em células satélites tanto no grupo controle quanto no grupo de solução salina. Quando realizado a injeção de formalina, houve uma modificação da expressão em neurônios e surgimento da expressão em células de Schwann e células satélites. Este estudo mostra que a AQP 2 está também constante no gânglio trigeminal, a semelhança dos nossos resultados, porém especificamente nas células de Schwann a sua expressão somente ocorreu após estresse tecidual agudo.

O estudo de Buffoli e colaboradores, que avaliou a presença da APQ 2 em gânglios da raiz dorsal de ratos após ligadura do nervo ciático também apresentou resultados semelhantes ao presente estudo.<sup>(30)</sup> Estes autores encontraram expressão da AQP 2 no citoplasma dos neurônios dessas células. Algumas células de Schwann também estavam marcadas e os vasos sanguíneos tiveram sua marcação bem expressiva. A dupla marcação por imunofluorescência da AQP 2 com o marcador de endotélio (CD31) confirmou a expressão em células endoteliais e a marcação com S100 confirmou a presença nas células de Schwann. Por outro lado, não foi encontrado AQP 2 no nervo ciático desses animais e nem na medula espinal.

A contagem das células de Schwann imunorreativas para AQP2 foi o método utilizado para quantificar um dos tipos de marcação da AQP 2 no nervo facial. Houve significância estatística entre contagem no nervo submetido a lesão e no nervo controle em dois animais (50% dos casos), concluindo, portanto, que o trauma agudo aumenta a expressão da AQP 2 após 24h do insulto. Quando comparado grupo LESÃO com grupo SHAM houve diferença estatística em três casos. Devido ao nervo S1 ter tido fragmentação central e a contagem de células de Schwann ter sido baixa nesse nervo, essa última comparação pode ter sido superestimada. A relação entre SC1 e C3 que também teve significância estatística, pode também ter sido equivocada, devido pequeno tamanho do nervo C3, gerando uma contagem de células de Schwann imunorreativas para AQP2 menor que todo o grupo. Para melhor definição da influência da dissecação próximo ao leito do nervo facial (SHAM)

na expressão da AQP 2 é necessário um maior número de animais nesse grupo.

A confirmação da AQP 2 no nervo facial e sua localização predominante em células de Schwann, células perivasculares (endotélio), perineuro e citoplasma dos axônios traz semelhanças entre esta proteína e a AQP 1 nesse tecido. Os achados na literatura da participação da AQP 2 em mecanismos nociceptivos relacionados a reação inflamatória aguda, devido a modificação do gradiente osmótico e a redistribuição de água no tecido nervoso periférico, aliado aos achados de edema do nervo facial associada a aumento da expressão da AQP 1 no tecido, reforça a idéia de que a AQP 2 também possa influenciar na instalação do processo inflamatório e disfunção do nervo facial.<sup>(20,29-31)</sup>

Ao nosso ver, os próximos passos para melhor entendimento desse processo seriam a quantificação da expressão da proteína através da intensidade da marcação do cromógeno pelo método IOD (*Integrated Optical Density*); avaliação da expressão concomitante da proteína com o edema do nervo e a instalação da paralisia facial; e realização de IF com dupla marcação de anticorpos contra células derivadas da crista neural (células de Schwann - proteína S-100), marcadores de endotélio (CD-31) e marcadores de axônios (neurofilamento - NF) buscando definir com melhor precisão em qual célula esta proteína é expressa. Após estas intervenções, seria possível elucidar o nível de expressão da AQP 2 que corresponde ao edema e a disfunção do nervo e com o melhor detalhamento da sua localização, identificar mecanismos moleculares capazes de impedir a progressão do processo inflamatório tecidual.

## 7 | CONCLUSÃO

Este estudo, inédito na literatura, contribuiu para a confirmação da presença da AQP 2 na porção extratemporal de nervo facial de ratos e é considerado um estudo inicial sobre a localização dessa proteína pela IHQ. A expressão foi mais evidente em células de Schwann e em células perivasculares (endotélio) mas também esteve presente em citoplasma de axônios, perineuro e epineuro. Por ter sido encontrada em todos os nervos estudados, conclui-se que a AQP 2 tem presença constante no nervo facial, independentemente do estímulo ao tecido, mas a sua expressão é maior nos nervos submetidos à compressão comparados aos controles.

## REFERÊNCIAS

Eviston TJ, Croxson GR, Kennedy PGE, Hadlock T, Krishnan AV. Bell's palsy: aetiology, clinical features and multidisciplinary care. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015 Nov 20;86:1356–61.

Mattox DE, Felix H. Surgical anatomy of the rat facial nerve. *The American Journal of Otology*. 1987

Jan;8(1):43-7.

Sajadi MM, Sajadi MR, Tabatabaie SM. The history of facial palsy and spasm: hippocrates to Razi. *Neurology*. 2011 Jul 12;77:174–8.

Hohman MH, Hadlock TA. Etiology, diagnosis, and management of facial palsy: 2000 patients at a facial nerve center. *Laryngoscope*. 2014 Jul;124(7):E283-93.

Lorch M, Teach SJ. Facial nerve palsy: aetiology and approach to diagnosis and treatment. *Pediatr Emerg Care*. 2010 Oct;26(10):763-9

Peitersen, E. Bell's Palsy: The spontaneous course of 2,500 peripheral facial nerve palsies of different etiologies. *Acta Otolaryngol Suppl*. 2002;(549):4-30.

Fujiwara T, Matsuda S, Tanaka J, Hato N. Facial paralysis induced by ear inoculation of herpes simplex virus in rat. *Auris Nasus Larynx*. 2016 Apr 16. pii: S0385-8146(16)30111-0.

Conforti L, Gilley J, Coleman MP. Wallerian degeneration: an emerging axon death pathway linking injury and disease. *Nat Rev Neurosci*. 2014 Jun;15(6):394-409.

Buffoli B. Aquaporin Biology and Nervous System. *Curr Neuropharmacol*. 2010 Jun;8(2):97-104.

Brown D, Katsura T, Kawashima M, Verkman AS, Sabolic I. Cellular distribution of the aquaporins: a family of water channel proteins. *Histochem Cell Biol*. 1995 Jul;104(1):1-9.

Verkman AS. Mammalian aquaporins: diverse physiological roles and potential clinical significance. *Expert Rev Mol Med*. 2008 May;10:e13.

Verkman, AS. Aquaporins in clinical medicine. *Annu Rev Med*. 2012;(63):303–16.

Benga, G. Water channel proteins (later called aquaporins) and relatives: past, present, and future. *IUBMB Life*. 2009 Feb;61(2):112-33.

Carbrey JM, Agre P. Discovery of the aquaporins and development of the field. *Handb Exp Pharmacol*. 2009;(190):3-28.

Verkman AS. Role of aquaporins in lung fluid physiology. *Respir Physiol Neurobiol*. 2007 Dec 15;159(3):324-30.

Laforenza U. Water channel proteins in the gastrointestinal tract. *Mol Aspects Med*. 2012 Oct-Dec;33(5-6):642-50.

Albertini R, Bianchi R. Aquaporins and glia. *Curr Neuropharmacol*. *Curr Neuropharmacol*. 2010 Jun;8(2):84-91.

King LS, Yasui M, Agre P. Aquaporins in health and disease. *Mol Med Today*. 2000 Feb;6(2):60-5.

Badaut J, Lasbennes F, Magistretti PJ, Regli L. Aquaporins in brain: distribution, physiology, and pathophysiology. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002 Apr;22(4):367-78.

Zhang J, Xiong Y, Lu LX, Wang H, Zhang YF, Fang F, et al. Aquaporin 1 expression alterations affects morphology and water transport in Schwann cells and hypoxia-induced up-regulation of AQP1 occurs in a HIF-1 $\alpha$ -dependent manner. *Neuroscience*. 2013 Nov 12;252:68-79.

Gao H, He C, Fang X, Hou X, Feng X, Yang H, et al. Localization of aquaporin-1 water channel in glial

cells of the human peripheral nervous system. *Glia*. 2006 May;53(7):783-7.

Neiva FC, Borin A, Lee KS, Dias MV, Rodrigues BR, Testa JR, et al. Expression of aquaporin 2 following facial nerve crush in rats. *Acta Otolaryngol*. 2015 Jul;135(7):741-5.

Ma T, Gao H, Fang X, Yang H. Water channel proteins in the peripheral nervous system in health and disease. *Mol Aspects Med*. 2012 Oct-Dec;33(5-6):605-11.

Sasaki S, Fushimi K, Saito H, Saito F, Uchida S, Ishibashi K, et al. Cloning, characterization, and chromosomal mapping of human aquaporin of collecting duct. *J Clin Invest*. 1994 Mar;93(3):1250-6.

Sasaki S, Kuwahara M, Yamashita Y, Marumo F (2000) Structure and function of AQP2. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15 Suppl 6:21-2.

Stevens AL, Breton S, Gustafson CE, Bouley R, Nelson RD, Kohan DE, et al. Aquaporin 2 is a vasopressin-independent, constitutive apical membrane protein in rat vas deferens. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000 Apr;278(4):C791-802.

Merves M, Bobbitt B, Parker K, Kishore BK, Choo D. Developmental expression of aquaporin 2 in the mouse inner ear. *Laryngoscope*. 2000 Nov;110(11):1925-30.

Mobasheri A, Wray S, Marples D. Distribution of AQP2 and AQP3 water channels in human tissue microarrays. *J Mol Histol*. 2005 Feb;36(1-2):1-14.

Borsani E, Bernardi S, Albertini R, Rezzani R, Rodella LF. Alterations of AQP2 expression in trigeminal ganglia in a murine inflammation model. *Neurosci Lett*. 2009 Jan 16;449(3):183-8.

Buffoli B, Borsani E, Rezzani R, Rodella LF. Chronic constriction injury induces aquaporin-2 expression in the dorsal root ganglia of rats. *J Anat*. 2009 Nov;215(5):498-505.

Fang F, Liu CY, Zhang J, Zhu L, Qian YX, Yi J, et al. Involvement of MAPK ERK activation in upregulation of water channel protein aquaporin 1 in a mouse model of Bell's palsy. *J Mol Neurosci*. 2015 May;56(1):164-76.

de Faria SD, Testa JR, Borin A, Toledo RN. Standardization of techniques used in facial nerve section and facial movement evaluation in rats. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2006 May-Jun;72(3):341-7.

Borin A, Toledo RN, de Faria SD, Testa JRG, Cruz OLM. [Behavioral and histologic experimental model of facial nerve regeneration in rats]. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2006 Nov-Dec;72(6):775-84. Portuguese.

Matsumoto I, Nagamatsu N, Arai S, Emori Y, Abe K. Identification of candidate genes involved in somatosensory functions of cranial sensory ganglia. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004 Jul 5;126(1):98-102.

## NOROVÍRUS MURINO: UM AGENTE PREVALENTE EM CAMUNDONGOS

Data de aceite: 19/11/2018

### **Daniele Masselli Rodrigues Demolin**

Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP -  
Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica  
na Área da Ciência de Animais de Laboratório –  
CEMIB, Campinas-SP.

### **Josélia Cristina de Oliveira Moreira**

Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP -  
Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica  
na Área da Ciência de Animais de Laboratório –  
CEMIB, Campinas-SP.

### **Rovilson Gilioli**

Universidade Estadual de Campinas - Centro  
Multidisciplinar para Investigação Biológica na  
Área da Ciência de Animais de Laboratório –  
CEMIB, Campinas-SP.

### **Marcus Alexandre Finzi Corat**

Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP -  
Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica  
na Área da Ciência de Animais de Laboratório –  
CEMIB, Campinas-SP.

**RESUMO: Introdução:** Norovírus são vírus RNA ss+, não envelopados, associados a importantes causas de epidemias de gastroenterites, comumente encontradas em seres humanos e com distribuição mundial. Afetam também espécies animais como: bovinos, suínos, cães e roedores. Norovírus murino (MNV) é descrito

como o mais recente agente infeccioso capaz de acometer animais de laboratório. Devido a sua prevalência e o potencial de interferência em resultados experimentais, às informações a respeito deste patógeno tornam-se importantes na pesquisa médico-biológica. **Objetivos:** Avaliar a ocorrência da infecção por MNV em colônias de camundongos nas cinco regiões do Brasil. **Resultados:** Das amostras de fezes analisadas por RT-PCR para a região conservada do gene do capsídeo viral (VP1), 86% (175/584) apresentaram-se positivas. A análise da região conservada do gene do capsídeo viral demonstrou uma identidade de nucleotídeos entre 83% a 99%. Para o isolamento deste vírus, células RAW 264.7 foram inoculadas com suspensão fecal de uma linhagem geneticamente modificada e um efeito citopático sugestivo de infecção por MNV foi observado. O isolamento viral foi confirmado por RT-PCR o que nos permitiu estabelecer a técnica de imunofluorescência indireta (IFI). Das mostras testadas por IFI, 26,54% (219/825) apresentaram anticorpos específicos anti-MNV. **Conclusão:** Este é o primeiro relato da identificação de MNV em colônias de camundongos em biotérios brasileiros, evidenciando a importância da implantação de um programa de monitoramento sanitário em

nosso país.

**PALAVRAS-CHAVE:** Norovírus murino, Biotérios brasileiros, Monitoramento sanitário, Saúde animal.

## MURINE NOROVIRUS: A PREVALENT AGENT IN MICE

**ABSTRACT: Introduction:** Norovirus is a non-enveloped, positive-sense RNA virus associated to epidemic causes of gastroenteritis in humans and worldwide distributed. Affects animal species as cattle, dogs, sheep, pigs and rodents. Murine norovirus (MNV) is the most recent infectious agent in laboratory mice. Because your worldwide prevalence, and its potential to interfere in experimental studies, bring out information about norovirus and its surveillance turns an important assignment in scientific research. **Objective:** To evaluate the occurrence of MNV infection in mouse colonies in five regions of Brazil. **Results:** A positivity index of 29,96% (175/584) was obtained in mouse fecal samples by reverse transcriptase polymerase chain reaction for a conserved region of the viral capsid gene in ORF2 region. Analysis of the conserved region of the viral capsid gene demonstrated a nucleotide identity of 83% to 99%. To isolate MNV, RAW 264.7 cells were inoculated with fecal suspension of a genetically modified strain and a suggestive cytopathic effect of MNV infection was obtained and confirmed by RT-PCR. Viral isolation allowed us to establish the indirect immunofluorescence technique. A percentage of 26.54% (219/825) of samples tested showed anti-MNV specific antibodies. **Conclusion:** Our studies was the first to report comprehensively the identification of MNV in mouse colonies of Brazilian facilities, evidencing the relevance in implantation the health monitoring program in our country and with that, support our biomedical scientific research through screenings of this pathogen in Brazil and comparatively in the world.

**KEYWORDS:** Murine Norovirus; Brazilian animal facilities, Health monitoring and animal health.

## 1 | INTRODUÇÃO

### 1.1 Contexto Histórico – Norovírus Humano (HuNoV)

Agentes infecciosos como bactérias, parasitas e vírus, estão associados com grande parte dos quadros de diarreia aguda, comumente conhecidos como gastroenterites. Estes quadros são caracterizados por um processo inflamatório da mucosa intestinal e tem se tornado uma das maiores causas de mortalidade e de grande importância na saúde pública<sup>(68)</sup>. Os vírus associados a gastroenterites têm aumentado progressivamente e pertencem a famílias distintas como: *Reoviridae* (Rotavírus), *Caliciviridae* (Norovírus e Sapovírus), *Astroviridae* (Astrovírus)

e *Adenoviridae* (Adenovírus), *Picobirnaviridae* (Picobirnavírus), *Cardiovirus* (Picornavírus) e *Parvoviridae* (Bocavírus) <sup>(105)</sup>. Estes vírus são altamente infecciosos e levam à surtos relacionados a infecções transmitidas por água e alimentos contaminados, fômites ou transmissão via contato direto <sup>(40, 41)</sup>. São comumente encontrados em hospitais, escolas e creches, navios transatlânticos e em casas de repouso. Apesar de afetarem indivíduos de todas as idades, altas taxas de mortalidade e morbidade podem ser observadas em crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos <sup>(68, 61)</sup>.

Atualmente são descritos mais de 30 genótipos, sendo que aproximadamente 60% dos surtos são causados pelo genótipo GII.4 <sup>(12)</sup>. E estes causam um importante impacto econômico em países desenvolvidos e subdesenvolvidos <sup>(6)</sup>. Em função deste impacto, muitos investimentos têm sido realizados na busca por uma vacina capaz de bloquear a infecção. Dados atuais relatam a eficiência de uma vacina capaz de elicitar uma resposta para anticorpos neutralizantes. Esta compreende uma mistura de moléculas candidatas como as VLP's (*virus-like particles*) de cepas protótipos e altamente circulantes na população. Dados deste estudo, em fase clínica demonstram que estas induzem uma rápida resposta de bloqueio por anticorpos, são capazes de ativar células de memória e demonstram ser altamente promissoras <sup>(8, 57)</sup>.

Até pouco tempo vacinas utilizando vírus morto ou atenuado não estavam em desenvolvimento devido à falta de um sistema de cultura celular efetivo para HuNoV. Porém com a recente descoberta de que enteróides intestinais humanos (HIE) suportam a replicação viral de HuNoV, novas possibilidades surgem no sentido de se produzir uma vacina que forneça imunização totalmente efetiva <sup>(107)</sup>.

## 1.2 Classificação

De acordo com a reestruturação taxonômica proposta pelo Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV), realizada recentemente, todos os vírus com genoma viral constituído de RNA ss<sup>+</sup>; RNA ss<sup>-</sup> e RNA<sup>ds</sup> pertencem a um grupo monofilético (*Realm*) denominado *Riboviria*. Neste contexto, se encaixam os Norovírus, que compreendem a família *Caliciviridae*, dividida em dez gêneros: Bavovírus (Bavaria virus); *Vesivirus* (Feline Calicivirus e *Vesicular Exanthema of Swine Virus*), *Lagovirus* (*Rabbit hemorrhagic disease vírus* e *European brown hare syndrome vírus*); *Sapovirus* (*Sapporo virus*), *Nebovirus* (*Newbury-1 virus*); *Minovirus* (*Minovirus A*); *Nacovirus* (*Navovirus A*), *Recovirus* (*Recovirus A*), *Salovirus* (*Nordland vírus*), *Valovirus* (*Saint Valerian vírus*), *Norovirus* (*Norwalk virus*) <sup>(98)</sup>.

Membros do gênero Norovírus acometem uma grande variedade de espécies hospedeiras que incluem: bovinos, ovinos, suínos, felinos, cães e roedores <sup>(85)</sup>.

Atualmente, o gênero é classificado em sete genogrupos (GI – GVII), baseado na sequência de aminoácidos das proteínas do capsídeo viral (VP1) <sup>(28, 97)</sup>. No entanto, estes genogrupos são subdivididos em genótipos ou *clusters*, baseados na similaridade genética entre eles.

Os genogrupos I, II e IV compreendem os genótipos encontrados em seres humanos. As infecções pelo GI e GII são responsáveis pela maioria das doenças em humanos, enquanto as infecções associadas pelo genótipo GII.4 ocorrem com maior frequência e apresentam-se como uma das maiores causas das gastroenterites epidêmicas ou esporádicas <sup>(28, 53, 43, 61, 97)</sup>. O genogrupo GIII inclui vírus identificados em bovinos <sup>(73)</sup>, enquanto aqueles identificados em suínos estão classificados no genogrupo GII <sup>(90, 99)</sup>. O GIV consiste em dois genótipos GIV.1 que infectam humanos e GIV.2 que infectam felinos e caninos <sup>(28, 62)</sup>.

O genogrupo GV inclui vírus detectados em roedores <sup>(32, 44, 97)</sup>. Vírus que infectam cães também estão inseridos no genogrupo VI <sup>(81)</sup> e recentemente um novo genogrupo foi proposto para esta espécie, denominado GVII <sup>(97)</sup>.

Devido à diversidade genética e a capacidade de recombinação dos Norovírus, juntamente com a contínua pressão seletiva exercida pelo sistema imune, uma nomenclatura unificada de genotipagem tem sido proposta, sugerindo a inclusão de sequências da ORF1 (*open reading frame*) para melhor identificação de cepas relacionadas <sup>(53, 81)</sup>.

### 1.3 Características gerais

Norovírus são vírus pequenos, não envelopados, com diâmetro entre 27 e 40 nm, e capsídeo com simetria icosaédrica <sup>(28)</sup>. As partículas virais são altamente resistentes, mantêm a infectividade em pH 2,7 por até 3 horas em temperatura ambiente. A viabilidade também é mantida após tratamento com éter 20% a 4°C por 18 horas ou ainda à incubação a 60°C por 30 minutos. As concentrações de hipoclorito de sódio de 5.000ppm por 1 minuto ou 3.000ppm por 10 minutos foram consideradas eficientes na inativação de Norovírus, juntamente com a utilização de glutaraldeído e iodo. São resistentes à desinfecção por amônia quaternária, solventes orgânicos, etanol 75% e hipoclorito de sódio a 300ppm. Irradiação ionizante (ultravioleta) e não-ionizante (gama) mostrou inativar alguns *Calicivírus*, embora não haja relatos específicos da eficiência deste método para o norovírus murino (MNV) <sup>(31)</sup>.

Recentemente com a descoberta de dois sistemas de cultura celular (células B e HIE) de HuNoV, testes de eficiência de inativação por cloro e álcool puderam ser realizados e os resultados mostraram que a utilização do cloro na concentração de 50ppm é efetiva na inativação do HuNoV - GII <sup>(13,15)</sup>.

### 1.3.1 Organização genômica

O genoma viral, com 7,5 kb de tamanho, é constituído de uma molécula linear de RNA fita simples, com polaridade positiva (RNAss<sup>+</sup>) <sup>(28)</sup>.

No geral, os vírus pertencentes ao gênero norovirus possuem um genoma constituído de três ORFs (*open reading frame*), com exceção do norovírus murino (MNV) que apresenta uma ORF alternativa (Figura 1). A ORF1 é traduzida em uma poliproteína de 194 kDa, que é clivada por uma protease viral (NS6) e produz seis proteínas não estruturais (NS), incluindo a própria NS6 <sup>(89)</sup>. As proteínas não estruturais incluem a RNA polimerase - dependente de RNA (NS7), a NS5/VPg, a NS3/NTPase/RNA helicase, a NS1/2 e NS4, que estão envolvidas no processo de formação do complexo de replicação <sup>(35,36)</sup>.

A ORF2 e a ORF3 são traduzidas a partir de um RNA subgenômico e codificam as proteínas do capsídeo viral, VP1 e VP2, respectivamente. A VP1 é uma proteína estrutural de 60 kDa e, com papel importante na replicação do vírus. A VP2, uma proteína estrutural de menor tamanho, com 23 kDa, interage com o RNA genômico durante a formação do vírion <sup>(40)</sup>.

Apenas os MNVs apresentam uma região de leitura alternativa, ORF4, que se sobrepõe a ORF2. Esta é responsável por codificar uma proteína conhecida como VF1 (*virulence factor 1*), relacionada a funções regulatórias do sistema imune do hospedeiro e virulência <sup>(94)</sup>.

Assim como outros RNA vírus, a extremidade 5' do genoma é covalentemente ligada a uma proteína conhecida como VPg (*genome-linked viral protein*), de 13 a 15 kDa e com aproximadamente 22 aminoácidos. Por outro lado, a extremidade 3', apresenta uma cauda poliadenilada (poli-A), com 46 a 78 nucleotídeos, com uma estrutura *stem-loop* responsável por interagir com algumas proteínas celulares, entre elas a nucleolina <sup>(1)</sup>. Há evidências que estas estruturas secundárias conservadas, presentes nas regiões 5' e 3' são importantes no processo de replicação, formação do RNA subgenômico, tradução e patogênese viral <sup>(1, 3)</sup>.

O RNA subgenômico, produzido durante a replicação, apresenta uma sequência de 2,4Kb na porção final do RNA genômico, covalentemente ligado a uma VPg na região 5' e a uma cauda poliadenilada na região 3' <sup>(40)</sup>.

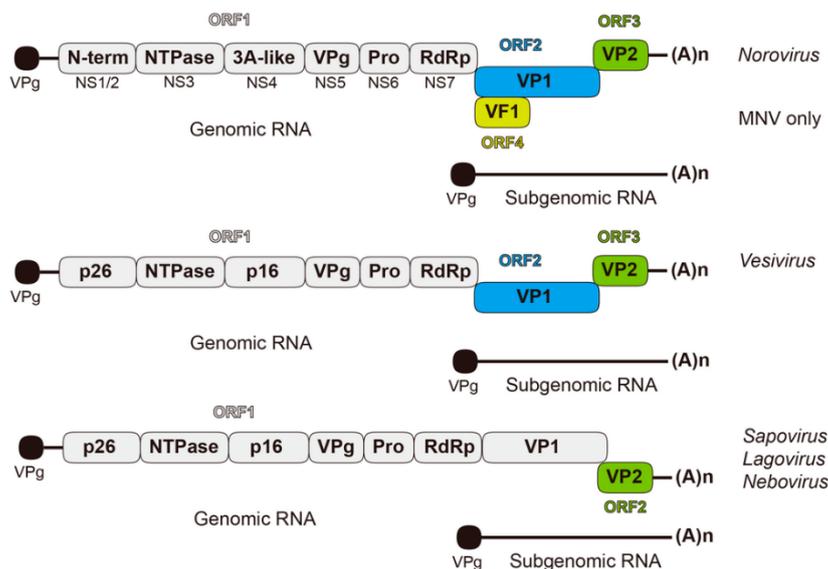


Figura 1: Organização do RNA genômico e subgenômico dos vírus pertencentes à família Caliciviridae. Fonte: Royal & Locker, 2016 (83).

### 1.3.2 Proteínas virais

#### 1.3.2.1 Proteínas não estruturais

##### p48 (NS1/2)

É uma proteína não estrutural, codificada na extremidade N-terminal da ORF1 e que apresenta uma variabilidade em tamanho e sequências de aminoácidos entre os vírus do genogrupo I (48kDa) e genogrupo II (37kDa) <sup>(20)</sup>. Estudos anteriores sugerem que esta proteína pode estar relacionada a interação dos Norovírus com o complexo de Golgi, apresentando importante papel no trânsito intracelular de proteínas virais, assim como no rearranjo das membranas vesiculares, associada com a replicação do RNA viral <sup>(20, 22)</sup>. A NS1/2 é processada durante os estágios tardios da infecção viral por caspases celulares ativadas por apoptose <sup>(89)</sup>.

##### NS3/p41 (p40) NTPase

Classificada na superfamília das RNA helicases, com peso molecular de 41 kDa e 40 kDa apresenta a capacidade de hidrolisar ATP, sugerindo sua atividade NTPase, porém não apresenta uma atividade de helicase <sup>(20)</sup>.

##### NS4/p22 (p20) /3A-like

Similar a proteína 3A dos Picornavírus, é responsável por codificar estruturas conservadas que mimetizam os sinais envolvidos com o trânsito entre o retículo endoplasmático e a fragmentação do complexo de Golgi. <sup>(85)</sup>. Atua como antagonista nas vias de secreção celular, sugerindo um novo aspecto na interação vírus e hospedeiro <sup>(69)</sup>.

## NS5/VPg

A maioria dos membros pertencentes à família *Caliciviridae* apresentam na região 5', estruturas secundárias conservadas, importantes no processo de replicação viral <sup>(1)</sup>. A VPg (*genome-linked viral protein*) é uma proteína de aproximadamente 15kDa, com aproximadamente 22 aminoácidos e que se encontra covalentemente ligada ao RNA genômico e subgenômico. Estruturalmente, apresenta um núcleo helicoidal que é flanqueado por regiões flexíveis N- e C-terminais <sup>(55)</sup>.

Estudos realizados nos gêneros Norovírus murino (cepa MNV-1 CW1), NV (NC1959) e *Feline calicivirus* (FCV) demonstraram a interação da VPg com proteínas celulares do hospedeiro no ciclo de vida viral, sugerindo, portanto, um novo mecanismo de iniciação do processo de tradução <sup>(87)</sup>. A VPg também é importante na regulação dos eventos iniciais da transcrição e tradução do RNA viral. Dados obtidos de estudos com o vírus *Norwalk* têm demonstrado a sua importante função no recrutamento de fatores de iniciação da tradução. Em Norovírus humano (HuNoV) e MNV, as VPgs interagem com os componentes do complexo eIF4F, em particular eIF4E e eIF4A, um componente da família das RNA helicases <sup>(94, 25)</sup>, assim como eIF3, uma proteína envolvida no recrutamento do complexo de pré-iniciação <sup>(16)</sup>.

## NS6/3CL<sup>pro</sup>

Os Norovírus codificam uma protease, denominada 3C-like (3CL<sup>pro</sup>), devido a sua similaridade com a proteína 3C dos Picornavírus <sup>(30)</sup>. Sua função está associada a clivagem da poliproteína codificada pela ORF1, dando origem as proteínas não-estruturais do Norovírus.

Kuyumcu-Martinez *et al.* <sup>(54)</sup> reportou a inibição da síntese de proteínas celulares em Norovírus recombinantes e estes dados demonstraram ser importantes na modulação da expressão gênica celular e viral <sup>(30)</sup>.

## RdRp (NS7)

A RNA polimerase dependente de RNA (RpRd) dos Calicivírus está relacionada com as enzimas presentes nos vírus da família *Picornaviridae*, como exemplo a 3D polimerase (3Dpol), a qual tem sido utilizada como modelo comparativo. As RpRd se estendem do aminoácido 1281 até a extremidade carboxi-terminal da ORF1. Apresenta elementos estruturais e características catalíticas, assim como em outros vírus de RNA de polaridade positiva <sup>(30)</sup>. As estratégias de processamento proteolítico da poliproteína codificada pela ORF1 são capazes de gerar tanto proteínas precursoras como produtos de clivagem enzimática, aumentando a capacidade dos vírus em produzir enzimas com funções replicativas. Estudos

enzimáticos com proteínas recombinantes confirmam que o precursor 3CL<sup>pro</sup>-RdRp apresenta atividade como protease e polimerase <sup>(7)</sup>.

### 1.3.2.2 Proteínas Estruturais

#### VP1

As partículas virais são compostas por 90 dímeros da proteína do capsídeo, a VP1. Codificada pela ORF2, peso molecular entre 58 e 60 kDa e, apresenta de 530 a 555 resíduos de aminoácidos <sup>(30)</sup>.

Possui dois domínios principais, o domínio S (*shell*) e o domínio P (*protruding*). O domínio S, com uma sequência conservada de 225 aminoácidos, contém oito cadeias antiparalelas do tipo  $\beta$ , comumente encontradas em proteínas do capsídeo viral e formam a estrutura icosaédrica <sup>(38)</sup>. O domínio P, com uma sequência variável de 127 aminoácidos, interage formando dímeros, que estabilizam o capsídeo e formam as protruções características do vírion <sup>(30, 40)</sup>. É organizado em dois subdomínios: P1 e P2, sendo que do ponto de vista conformacional, o subdomínio P2 localiza-se externamente na superfície do capsídeo. Contém sítios de ligação que são reconhecidos por anticorpos neutralizantes e representam importantes determinantes da virulência e antigenicidade viral, assim como demonstrado nas interações entre os antígenos do grupo ABO e o Norovírus nas infecções em humanos <sup>(91)</sup>.

Altas taxas de mutação podem ser demonstradas neste subdomínio <sup>(17)</sup> e no modelo MNV a substituição de um único aminoácido, pode estar associada à atenuação da infecção *in vivo* <sup>(4)</sup>.

A proteína VP1 quando expressa em células de inseto a partir de baculovírus recombinante, é capaz de realizar a montagem de VLPs. Estruturalmente e antigenicamente mimetizam o vírus, embora não possuam o genoma viral. Esta oligomerização, ou automontagem da partícula, também pode ocorrer sem a presença do domínio P <sup>(7)</sup>.

#### VF1

A proteína VF1 é encontrada apenas em Norovírus murino e alguns Sapovírus. É codificada por uma região de leitura alternativa, denominada ORF4, que se sobrepõe a ORF2, sendo expressa por um RNA subgenômico. Durante a infecção viral, a VF1 pode ser encontrada nas mitocôndrias que apresentam um importante papel na sinalização da resposta imune inata, através de proteínas de membrana, denominadas proteína de sinalização antiviral mitocondrial (MAVS) <sup>(63)</sup>. Estas proteínas apresentam um domínio N-terminal *CARD-like* e um domínio de transmembrana C-terminal e estão envolvidas na ativação de NF- $\kappa$ B e IRF3 na resposta a infecção viral, demonstrando o envolvimento das mitocôndrias na imunidade

inata<sup>(86)</sup>.

Análises funcionais têm demonstrado que a VF1 apresenta um papel antagônico na resposta imune inata, por impedir a regulação de genes celulares ativadas pela via inata, como o interferon  $\beta$ . Em estudos *in vitro*, utilizando células RAW 264.7, as funções relacionadas ao controle da apoptose, foram observadas durante a infecção viral na ausência da expressão da ORF4. Por outro lado, em experimentos *in vivo*, com camundongos STAT1<sup>-/-</sup> infectados com um vírus mutante para a expressão da ORF4, observou-se uma expressão tardia para os sintomas clínicos, demonstrando, portanto, seu papel na virulência viral <sup>(63)</sup>.

## VP2

A VP2 é uma proteína codificada pela ORF3 e apresenta de 208 a 268 resíduos de aminoácidos. Com peso molecular entre 22 a 29 kDa e exibe uma grande variabilidade no tamanho e na composição da sequência de nucleotídeos entre os vírus da mesma família <sup>(30)</sup>. Evidências do papel da VP2 sugerem sua contribuição no aumento da expressão da VP1, na estabilização das VLPs e no empacotamento do genoma viral <sup>(9)</sup>.

Há indícios que os mecanismos envolvidos no processo de tradução ocorram via um mecanismo denominado “terminação-reiniciação” (TTR), ou seja, que o evento de tradução da VP1 via RNA subgenômico ocorre através das interações na região 3' que favorecem o recrutamento de fatores de iniciação de transcrição para a região 5' – VP2 <sup>(64)</sup>. Estes dados suportam a ideia de que a síntese da VP2 é regulada pela VP1.

Alguns estudos também revelam que a VP2 está envolvida na indução da resposta imune protetora, por regular a maturação de células apresentadoras de antígenos <sup>(106)</sup>.

### 1.3.3 Replicação viral

Os mecanismos envolvidos na replicação viral do Norovírus humano (HuNoV) têm sido elucidados pela utilização de outros membros da família *Caliciviridae*, como o Calicivírus felino (FCV) e o MNV <sup>(100)</sup>.

As estratégias de replicação do Norovírus são bem semelhantes aos vírus RNAss<sup>+</sup> e ocorre pela síntese de uma fita intermediária de polaridade negativa que serve como molde para a produção do RNA genômico a partir da RNA polimerase - RNA dependente (RpRd), uma enzima altamente conservada entre os vírus de RNA <sup>(28)</sup>.

Na primeira etapa da replicação, ocorre a adsorção do vírion aos receptores de superfície celular que envolve diferentes estruturas de carboidratos. O Norovírus

humano (HuNoV) liga-se a antígenos do grupo de histocompatibilidade sanguínea (HBGA: *histo-blood group antigens*) que neste caso, ligam-se ao subdomínio P2 do capsídeo viral, altamente variável, formando uma interface com a cadeia de oligossacarídeos dos antígenos <sup>(94)</sup>.

Por outro lado, o Norovírus murino liga-se aos radicais de ácido siálico, glicolipídeos e glicoproteínas e a entrada do vírus na célula hospedeira ocorre pelo processo endocítico, mediado por proteínas como dinamina e colesterol <sup>(23)</sup>. Estudos recentes têm demonstrado que receptores proteicos, membros da família CD300 tem mediado a ligação do MNV a superfície celular juntamente a cofatores moleculares presentes nos fluídos biológicos <sup>(74)</sup>.

Após a internalização e o desnudamento do genoma viral, inicia-se a tradução. A ORF1 codifica uma poliproteína que é sintetizada pela clivagem proteolítica de uma protease viral, NS6 e, resulta na liberação de proteínas não estruturais para formar o complexo de replicação no citoplasma da célula hospedeira <sup>(84)</sup>.

A formação deste complexo ocorre pela indução de proteínas não estruturais p48 (NS1-2) e p22 (NS4), e envolve membranas da célula hospedeira e proteínas que são redistribuídas e modificadas durante a infecção viral <sup>(35, 94)</sup>. Estas membranas são derivadas do retículo endoplasmático, complexo de Golgi e endossomos <sup>(36, 89)</sup>. Entretanto, a interação entre estas organelas e o complexo de replicação durante a infecção viral pode induzir a ativação de sensores da imunidade inata <sup>(84)</sup>.

Recentemente, foi demonstrado que este complexo de replicação envolve uma rede citoesquelética, através da organização dos microtúbulos em conjunto com a RNA polimerase viral (NS7) <sup>(35)</sup>. Apenas quando este complexo é formado, a RdRp (NS7) começa a síntese do RNA polaridade negativa a partir do RNA genômico, cujo mecanismo é dependente da interação entre a VPg e a RdRp, que se ligam através de pontes fosfodiéster junto ao nucleotídeo inicial guanidina, presente nos membros da família *Caliciviridae*, sendo o processo conhecido como “guanilação” <sup>(104)</sup>.

Já a síntese do RNA subgenômico que é traduzido em proteínas estruturais, VP1, VP2 e VF1 no caso de MNV, pode ocorrer por dois mecanismos distintos: um deles pode estar associado à interação de uma estrutura *stem-loop* da VP1, juntamente com a RpRd viral <sup>(104)</sup> ou por um processo denominado de terminação “prematura” da replicação do RNA polaridade negativa, através de um sinal de terminação <sup>(64)</sup>. As proteínas estruturais são montadas e empacotam o RNA genômico formando as partículas virais maduras. A liberação dos vírions ocorre após a lise celular <sup>(94)</sup>.

### 1.3.4 Patogênese

A patogênese da infecção pelo Norovírus humano tem sido dificultada pela incapacidade da propagação do vírus *in vitro* <sup>(18)</sup>. Modelos animais têm contribuído na elucidação destes mecanismos. Dentre eles, apenas o Norovírus murino se replica em cultura de células <sup>(92, 101)</sup>. O tropismo celular do HuNoV *in vivo* ainda não está bem esclarecido, embora haja evidências de que os enterócitos da porção proximal do intestino delgado representam o sítio de replicação, devido à presença do antígeno viral nestas células <sup>(42)</sup>.

Dados recentes reportam que os Norovírus são capazes de infectar, especificamente células imunes da lâmina própria e folículos linfóides, incluindo placas de Peyer <sup>(42)</sup>, como demonstrado em bovinos e camundongos, e que também se replicam em células dendríticas, macrófagos e células B <sup>(100)</sup>.

Esforços por parte da comunidade científica foram realizados para o cultivo *in vitro* de HuNoV <sup>(18)</sup>. A replicação em células B foi evidenciada pelo aumento do número de cópias e título viral, sugerindo que NoV faz transcitose, ou seja, atravessam o epitélio intestinal acessando as células alvo do sistema imune <sup>(37, 41)</sup>, porém outros estudos são necessários para que se determine um método de cultura reprodutível para o HuNoV. <sup>(27)</sup>.

Células epiteliais intestinais denominadas enteróides ou HIE (*Human Intestinal enteroids*) geradas nas criptas intestinais e isoladas de tecido intestinal humano parecem ser promissoras no sistema de replicação do HuNoV <sup>(10,19,39)</sup>.

Karst & Wobus <sup>(42)</sup> propuseram um modelo da infecção intestinal por Norovírus, demonstrando que as células M, presentes em placas de peyer, apresentam um receptor para imunoglobulinas A (IgA), e ligam-se à patógenos formando um complexo capaz de atravessar a barreira epitelial por um mecanismo de transporte vesicular transepitelial, conhecido por endocitose.

Embora acredita-se que a infecção por Norovírus seja restrita ao intestino, estudos detectaram o RNA viral no soro de 15% de indivíduos infectados <sup>(40)</sup>, no entanto, o mecanismo da disseminação viral para os tecidos periféricos é pouco conhecido. Estudos com o MNV mostraram que o tropismo por células dendríticas é capaz de facilitar a sua disseminação extra intestinal para os linfonodos mesentéricos <sup>(40)</sup>.

### 1.3.5 Métodos de Diagnóstico

O Norovírus foi primeiramente identificado pela utilização da microscopia eletrônica (ME) e imunomicroscopia eletrônica (IME) <sup>(38)</sup>. Outros métodos de diagnóstico também podem ser utilizados, embora a clonagem e o sequenciamento

do genoma do *Norwalk* vírus <sup>(103)</sup> permitiu o desenvolvimento de métodos moleculares para a detecção do vírus nas amostras de fezes nos surtos de gastroenterite <sup>(76)</sup>.

### 1.3.6 Métodos moleculares

Os ensaios de PCR em tempo real (RT-qPCR) e RT-PCR puderam ser desenvolvidos e como testes altamente sensíveis, mostraram-se capazes de diferenciar os genogrupos e determinar a carga viral <sup>(29, 52, 81, 102)</sup>. Entretanto, com a descoberta de novas cepas virais e, com o aumento no número de sequências acessíveis, novos protocolos têm sido utilizados com o objetivo de identificar novas cepas circulantes. Ensaios qRT-PCR baseados no sistema TaqMan tem sido amplamente utilizado por conta de sua sensibilidade e especificidade, sendo capazes de detectar entre 10 a 100 cópias/g de amostra <sup>(51)</sup>.

Atualmente, metodologias moleculares, como o NGS (*Next generating sequencing*) tem se tornado uma importante ferramenta, pois permite identificar uma diversidade viral em diferentes amostras e compará-la com o viroma e microbioma, que por sua vez podem influenciar na transmissão e expressão da infecção causada pelo NoV <sup>(14)</sup>.

### 1.3.7 Métodos enzimáticos

Ensaios imunoenzimáticos como ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*), Imunofluorescência Indireta (IFI) e o ensaio fluorescente multiplexado (MFIA) tem sido importantes ferramentas para a triagem de amostras de soro, assim como contribuem para estimar a prevalência da infecção por norovírus e detectar cepas antigenicamente distintas <sup>(26, 34; 49; 50, 82)</sup>, embora amostras com resultados negativos devem ser confirmadas por uma segunda metodologia.

No caso do norovírus humano vários testes enzimáticos de terceira geração, recomendados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) estão disponíveis no mercado comercial <sup>(81)</sup>.

Ensaios fluorescentes multiplexados, que utilizam a tecnologia Luminex têm sido utilizados no diagnóstico de infecções pelo norovírus murino (MNV), por ser um teste automatizado e mais sensível do que as reações de ELISA <sup>(80)</sup>.

## 2 | NOROVÍRUS MURINO (MNV)

A descoberta do Norovírus murino (MNV) abriu caminhos nos estudos de replicação viral, mecanismos de patogenicidade, interação vírus-hospedeiro e no desenvolvimento de metodologias para o diagnóstico deste patógeno. Até pouco

tempo, o conhecimento sobre a patogênese da infecção pelo Norovírus humano tem sido dificultado pela incapacidade da propagação do vírus *in vitro* <sup>(18)</sup>. O uso de diferentes modelos animais tem contribuído na elucidação dos mecanismos de patogenicidade dos Norovírus. Desses modelos experimentais, em potencial, apenas o Norovírus murino se replica em cultura de células<sup>(92,100)</sup>.

MNV foi descrito pela primeira vez em 2003 por Karst e colaboradores<sup>(44)</sup>, em camundongos *knockout* para os genes RAG2 (*recombination activating gene*) e STAT-1 (*signal transducer and activator of transcription 1*). Estes camundongos, reconhecidos como RAG 2/STAT-1<sup>-/-</sup>, desenvolviam uma doença sistêmica causada por um patógeno desconhecido, mas que poderia ser transmitida por inoculações intracerebrais sucessivas. A análise do cérebro destes animais apresentou resultados negativos para patógenos humanos e murinos sabidamente conhecidos. Outras linhagens *knockout* para receptores de interferon  $\alpha\beta\gamma$  (IFN $\alpha\beta\gamma$ R<sup>-/-</sup>) quando infectadas também sucumbiam a infecção após 30 dias, demonstrando, portanto, o papel dos interferons na resistência à infecção. Sinais clínicos de encefalite, vasculite, pneumonia e hepatite foram descritos <sup>(44)</sup>.

A análise da sequência de nucleotídeos demonstrou homologia à regiões do genoma dos Calicivírus e posteriormente foi nomeado Norovírus murino 1 (MNV-1) <sup>(44)</sup>. Após a descoberta do MNV-1, três novas cepas de MNV foram descritas: MNV-2; MNV-3 e MNV-4, que são capazes de induzir infecção persistente, enquanto MNV-1 induz infecção transiente <sup>(33)</sup>. As cepas de MNV descritas até então apresentam uma identidade de nucleotídeos em torno de 87% a 94,1%, demonstrando regiões altamente conservadas, assim como características biológicas homólogas quando comparadas a sequência MNV-1, porém divergem quando comparadas com Norovírus humano e bovino <sup>(93)</sup>.

Thackray e colaboradores <sup>(93)</sup> analisaram 26 sequências genômicas de MNV e observaram alta homologia nos primeiros 32 nucleotídeos da região 5' e 64 nucleotídeos da junção ORF1 e ORF2, assim como nos 47 nucleotídeos da ORF2, quando comparados entre as cepas descritas. Embora fosse possível verificar 13% de divergência, todas as sequências foram incluídas em um único genogrupo, genótipo e sorotipo.

A identificação da presença do MNV em camundongos RAG/STAT1<sup>-/-</sup> contribuiu para o estudo dos mecanismos envolvidos na resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro, demonstrando que STAT1<sup>-/-</sup> é um fator preponderante no controle da infecção, desde que camundongos deficientes para STAT1<sup>-/-</sup> apresentem altos títulos virais <sup>(42)</sup>.

Vários estudos foram realizados para verificar a habilidade deste vírus em induzir doença clínica. Camundongos com expressão normal do gene STAT1 e deficientes para o gene RAG1 e RAG2 foram inoculados pelas vias: oral, nasal e

intracranial, mas 90 dias após a inoculação não sucumbiram à infecção <sup>(44)</sup>.

O gene ativador de recombinação (RAG) é essencial na produção de linfócitos T e B maduros, que por sua vez são componentes do sistema imune adaptativo. Estes genes codificam proteínas conhecidas como RAG1 e RAG2 que permitem a recombinação dos genes VDJ, envolvidos na maturação de células T e B. Por outro lado, as proteínas ativadoras da transcrição e sinal de transdução (STAT), pertencem à família de proteínas citoplasmáticas envolvidas no desenvolvimento e função do sistema imune e são ativadas na presença de polipeptídeos extracelulares. Estas apresentam a função de inibir a replicação viral e apoptose, resultando em uma baixa disseminação viral <sup>(67)</sup>.

Camundongos RAG<sup>-/-</sup>, são capazes de fazer a infecção persistente com excreção de partículas virais infecciosas por períodos prolongados, indicando que a imunidade adaptativa não é necessária à proteção contra o desenvolvimento da doença <sup>(77)</sup>. Wobus e colaboradores <sup>(100)</sup> demonstraram a importância do sistema imune inato na infecção por MNV-1, devido ao *clearance* viral observado em linhagens de camundongos imunocompetentes.

A infecção por MNV-1 em camundongos imunocompetentes demonstra que o vírus é capaz de replicar e disseminar por vários órgãos como: baço, pulmão, fígado e linfonodos mesentéricos. Análises histológicas permitiram observar a presença de uma enterite leve, hipertrofia da polpa vermelha e polpa branca do baço após 72 horas de infecção e infiltrado inflamatório em hepatócitos <sup>(44, 67)</sup>.

O sistema imune inato também tem papel importante na resistência à infecção por MNV. Camundongos deficientes para IFN tipo I (IFN $\alpha\beta$ ) e IFN tipo II (IFN $\gamma$ ) quando infectados pelo MNV são capazes de resistir a infecção, mas quando apresentam deficiência para ambos os tipos de interferon, a infecção é letal, sugerindo um possível mecanismo de compensação entre a resposta IFN I e II na resistência à infecção que de certa forma são capazes de controlar a disseminação viral para os tecidos periféricos <sup>(44)</sup>. Diante destes fatos acredita-se que indivíduos com deficiência na resposta imune inata podem desenvolver a doença com sintomas mais graves. Além disso, a variação genética dos receptores aos Norovírus é um fator importante quanto à susceptibilidade à infecção <sup>(101)</sup>.

O conhecimento *in vitro* e *in vivo* da replicação viral e as patologias das diferentes sequências genômicas de MNV, mesmo pertencentes ao mesmo genogrupo contribuíram no entendimento das diferenças genéticas entre elas. Assim como em Norovírus humano, há evidências de recombinação entre as cepas de MNV, sugerindo a possibilidade do surgimento de cepas geneticamente distintas. <sup>(66)</sup>. Da mesma forma, sugere-se a possibilidade de co-infecção entre as cepas de MNV <sup>(31, 46)</sup>.

Estudos imunohistoquímicos revelaram que MNV apresenta um tropismo por

células de origem mononuclear; macrófagos e células dendríticas <sup>(67, 100)</sup>. Baseado nestes relatos foi possível identificar uma linhagem celular permissiva, denominada RAW 264.7, originária de células imortalizadas de macrófagos de camundongos, transformadas pelo vírus da leucemia de Abelson e que permitiu a propagação *in vitro* do MNV. Estes achados contribuíram significativamente para os estudos relacionados a biologia e patogênese do Norovírus, utilizando o MNV como principal modelo <sup>(100)</sup>.

Assim como em seres humanos, estudos epidemiológicos têm demonstrado que o Norovírus animal apresenta distribuição mundial <sup>(85)</sup>. Países da América do Norte, Europa e Ásia têm descrito a alta prevalência da infecção por MNV em colônias de camundongos <sup>(26, 31, 34, 42, 47, 48, 49, 66, 77, 78)</sup>. Estes dados apontam para um grande impacto do potencial deste vírus em interferir em resultados experimentais que utilizam modelos animais, como já demonstrados por alguns autores <sup>(56, 75)</sup>.

## 2.1 Norovírus em *Rattus norvegicus*

Após a identificação de MNV e os relatos de sua prevalência em camundongos <sup>(48,60)</sup>, pesquisadores passaram a procurar evidências de NoVs em colônias de ratos <sup>(21, 88, 95)</sup> visto que, este modelo animal também é amplamente utilizado na pesquisa biomédica.

Tsunesumi e colaboradores (2012) descreveram a presença de NoV em ratos silvestres do gênero *Rattus rattus* e *Apodemus speciosus* <sup>(96)</sup>. Em seguida, Tse e colaboradores <sup>(95)</sup> identificaram dois isolados de NoV em *Rattus norvegicus*. Com organização típica de NoV, o genoma viral tem aproximadamente 7.541pb, dividido em três regiões abertas de leitura (ORF1, ORF2 e ORF3). A primeira descrição de Norovírus em colônias de ratos foi realizada recentemente pelo nosso grupo de trabalho. Neste estudo, o isolamento do vírus em células permissivas RAW264.7 e o desenvolvimento de um semi-nested RT-PCR, permitiu o diagnóstico de Norovírus e a implantação de uma rotina de monitoramento sanitário para este agente. A prevalência viral obtida pelo semi-nested RT-PCR e pela sorologia, foi de 11% e 11,45%, respectivamente em colônias de ratos mantidos em biotérios brasileiros <sup>(65)</sup>. O isolamento viral permitiu o depósito da cepa brasileira de RatNoV no GenBank sob número de acesso KU 169124.

## 3 | JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

OCEMIB (Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na área da Ciência de Animais de Laboratório) é um biotério localizado na UNICAMP (Universidade Estadual de Campinas) com um importante papel e atuação no fornecimento de modelos de animais certificados do ponto de vista sanitário e genético para

a pesquisa médico-biológica realizada pela comunidade científica. Neste sentido, o Laboratório de Controle de Qualidade Sanitária Animal (LCQSA) do CEMIB desenvolve atividades voltadas ao monitoramento sanitário de camundongos e ratos por meio da pesquisa de patógenos primários e oportunistas capazes de influenciar e alterar resultados experimentais e por consequência gerando trabalhos científicos não confiáveis e não reproduzíveis.

O LCQSA é membro efetivo do *ICLAS Laboratory Animal Quality Network (Performance Evaluation Program for Diagnostic Laboratories-PEP)*. Este programa criado em 2006 com iniciativa do ICLAS (*International Council for Laboratory Animal Science*), junto a laboratórios de outros países envolvidos no monitoramento da saúde de animais de laboratório, tem como objetivo manter a qualidade dos animais utilizados nas pesquisas científicas e avaliar a confiabilidade e sensibilidade dos métodos de diagnóstico laboratoriais adotados pelos laboratórios participantes.

Neste contexto, o laboratório tem continuamente envidado esforços para implantação e melhoria de novas técnicas de diagnóstico com a proposta de identificar agentes patogênicos emergentes ou re-emergentes e prevalentes nas colônias de animais de laboratório.

Relatos da infecção por MNV, foram primeiramente descritos por Hsu *et al.* <sup>(34)</sup>, que indicou o MNV como um dos patógenos mais prevalentes em camundongos. Em função da relevância da adoção de um programa de monitoramento sanitário, do impacto deste agente nas colônias de animais de laboratório e visto que, não há dados da prevalência de MNV no Brasil, este trabalho teve como objetivo avaliar a distribuição da infecção pelo Norovírus murino em camundongos mantidos em biotérios de Universidades públicas e privadas, Centros de pesquisa e empresas privadas das diferentes regiões geográficas do Brasil.

#### 4 | METODOLOGIA

**Biotérios:** Foram avaliados vinte e oito biotérios de Universidades públicas e privadas, Centros de pesquisa e empresas privadas localizados nas regiões Sudeste, Sul, Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil. Dentre estes biotérios, dezoito são classificados como biotérios de produção; quatro biotérios de empresas privadas e seis biotérios de experimentação.

**Animais:** Camundongos de diferentes linhagens foram submetidos à avaliação sanitária. Os animais foram eutanasiados segundo as recomendações do CONCEA e necropsiados para a coleta de amostras biológicas. Os procedimentos adotados neste estudo foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) do Instituto de Biologia da Unicamp (Protocolo nº: 2372-1).

**Amostras:** Um total de 584 amostras de fezes de camundongos foram

coletadas e uma suspensão fecal a 20% (p/v) foi preparada para a extração do RNA viral e infecção celular. Também foram obtidas 825 amostras de plasma para a realização da técnica de Imunofluorescência indireta (IFI).

**Cultura celular e Isolamento viral:** Células RAW 264.7 foram utilizadas para a o isolamento viral, produção do antígeno e preparo de lâminas para a reação de Imunofluorescência Indireta. Suspensão de fezes a 20% de uma linhagem de camundongo geneticamente modificada foi utilizada como inóculo e doze passagens “cegas” foram realizadas até a observação de efeito citopático (ECP) característico da infecção por MNV após 24 a 48 horas após a inoculação.

**Métodos moleculares:** O RNA viral extraído de amostras de fezes e de sobrenadante de cultura celular foi submetido a reação de RT-PCR pela utilização de *primers* direcionados para a região conservada do gene do capsídeo (VP-1), que detectam os 4 genótipos (MNV-1, 2, 3, 4). O sequenciamento dos amplificadas permitiram realizar o alinhamento e gerar uma árvore filogenética. A caracterização foi realizada pela comparação com as sequências pertencentes a família *Caliciviridae* depositadas no GenBank, pela utilização do BLAST.

## 5 | RESULTADOS

### 5.1 Identificação de MNV nas amostras de fezes pelo RT-PCR

Os resultados obtidos com *primers* que detectam as cepas MNV-1; MNV-2; MNV-3 e MNV-4, demonstraram uma positividade de 29,96% (175/584) nas amostras de fezes de camundongos analisadas nos biotérios das cinco diferentes regiões do Brasil.

Na avaliação dos biotérios, 86% apresentaram resultados positivos para MNV enquanto 14% apresentaram-se negativos (Figura 2).

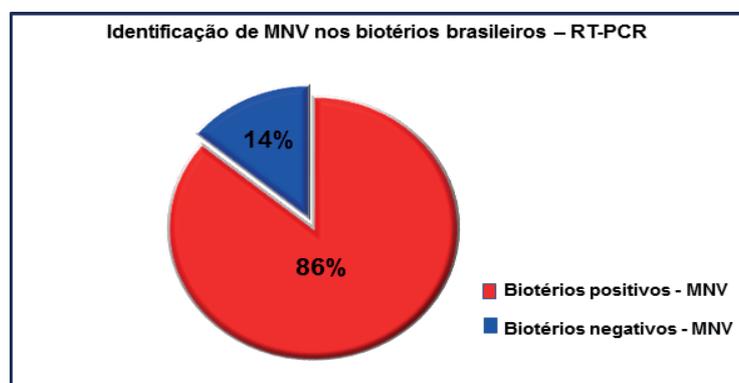


Figura 2: Gráfico de Identificação de MNV nos biotérios brasileiros pela técnica de RT-PCR.

Dentre as regiões analisadas, a região Sudeste apresentou positividade de

37,6% e destacou-se por concentrar 75% das amostras positivas, com a maior quantidade de biotérios de produção de universidades públicas e privadas que mantêm colônias de camundongos S.P.F (*Specified pathogen free*), providas de sistema de barreiras sanitárias.

A análise de positividade entre os biotérios de produção e experimentação pertencentes às diferentes instituições demonstrou que a disseminação da infecção pelo MNV tem um perfil muito semelhante. Os biotérios de produção com positividade de 44% e experimentação com 56%.

## 5.2 Isolamento Viral

Isolamento viral foi confirmado pela técnica de RT-PCR nas diferentes passagens celulares, após a inoculação com suspensão fecal de camundongo geneticamente modificado. A observação do efeito citopático, foi evidenciada na 3ª passagem após infecção e caracterizado por células arredondadas e formação de vesículas (Figura 3A e 3B). O isolado obtido identificado como *LCQS1*, foi utilizado na produção de lâminas de IFI, análises de identidade de nucleotídeos e caracterização molecular dos genótipos de MNV.

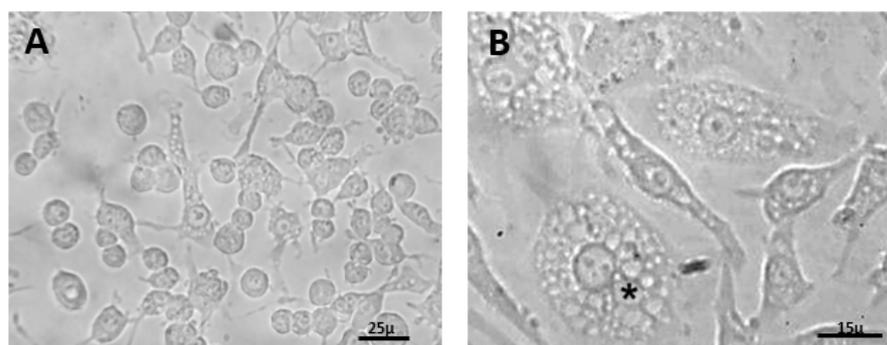


Figura 3: Células RAW 264.7 infectadas com suspensão fecal de camundongo geneticamente modificado, naturalmente infectado com MNV. A: Monocamada de células RAW 264.7 não infectadas (250x); B: Efeito citopático do MNV (\*) após 48 horas de infecção, evidenciado pelas células arredondadas e vesiculadas (aumento de 400x).

## 5.3 Identificação de MNV nas amostras de plasma pela técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI)

Os dados obtidos pela técnica de Imunofluorescência indireta (IFI) para a pesquisa de MNV nas colônias de camundongos dos biotérios de produção e experimentação, das diferentes instituições brasileiras demonstraram que o vírus se mantém circulante nestas colônias. Do total de 825 amostras testadas, 219 (26,54%) apresentaram anticorpos específicos anti-MNV. Dentre as instituições positivas das diferentes regiões do Brasil, universidades Públicas/Privadas representam 20%; Centros de Pesquisa /Produção 29,19%; Centros de Pesquisa/Experimentação

39% e empresas privadas 25%. Apenas oito instituições com padrão sanitário S.P.F, apresentaram-se negativas para anticorpos anti-MNV.

A reação de IFI caracteriza-se por apresentar fluorescência citoplasmática, presença de grânulos e vesículas em células RAW 264.7 (Figura 4).

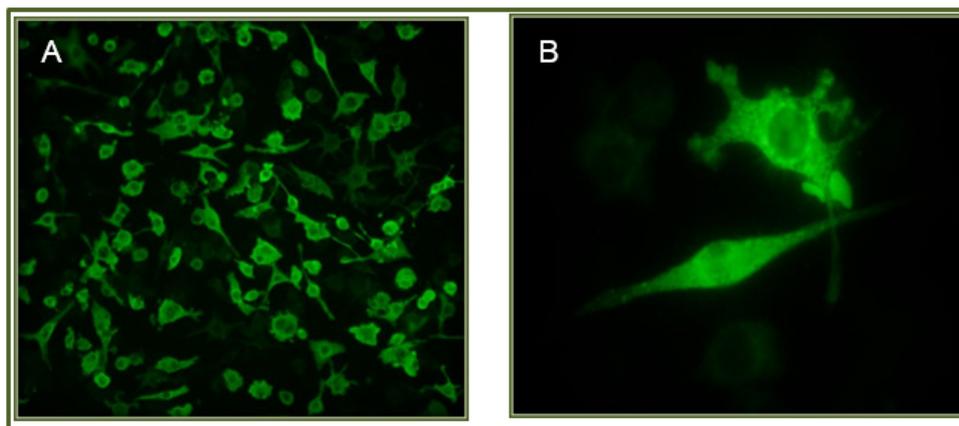


Figura 4: Reação de Imunofluorescência Indireta. A: Células RAW 264.7 infectadas com MNV (isolado LCQS 1), aumento de 200x e B: Células RAW 264.7 infectadas com MNV (isolado LCQS 1), aumento de 400x):

#### 5.4 Caracterização molecular e análise filogenética

Para a análise filogenética, nove amostras de produtos de PCR, foram submetidas ao sequenciamento junto com o isolado *LCQS1* obtido de cultura celular infectada. Uma sequência consenso, foi criada para cada uma destas amostras avaliadas.

As amostras identificadas como *LCQS* representam diferentes biotérios sendo *LCQS1 a LCQS 7*, biotérios de produção de Universidades Pública/Privadas, *LCQS 10*: biotério de um Centro de pesquisa e *LCQS 11*: biotério de empresa privada.

Para fins de comparação com a literatura, 29 sequências protótipo de MNV, de genomas parciais e completos disponíveis no *GenBank*, foram incluídas na análise molecular, representando os diferentes genótipos circulantes mundialmente. Três sequências obtidas de ratos (*Rattus norvegicus*), duas protótipos e uma isolada de colônias de ratos no Brasil, assim como representantes da família *Caliciviridae* também foram incluídas na análise (Figura 5).

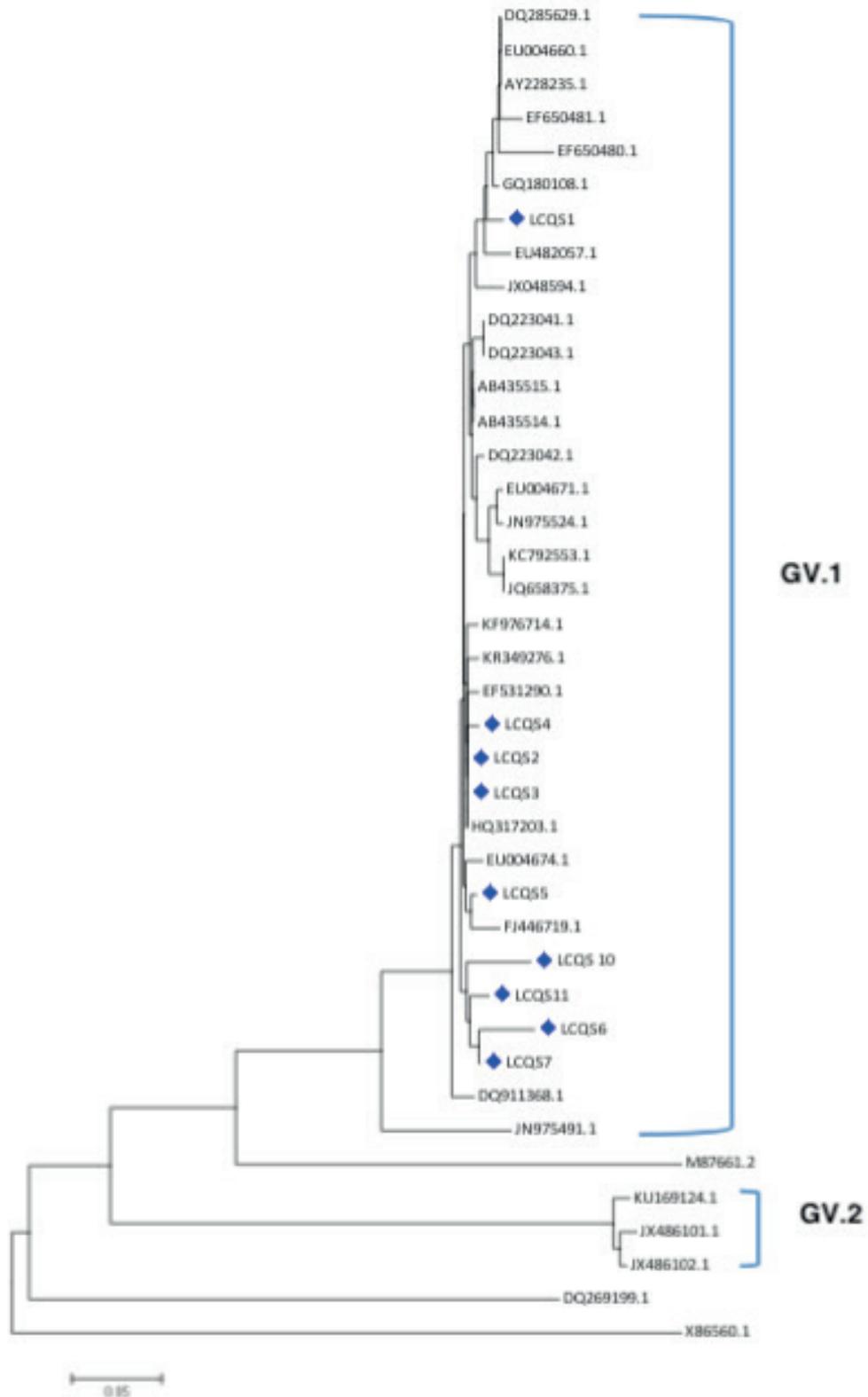


Figura 5: Análise filogenética baseada na sequência de nucleotídeo da VP1 de isolados de MNV de biotérios brasileiros e cepas protótipos do genogrupo V. As sequências M87661.2 e X86560.1 foram utilizadas como grupos externos. As sequências dos isolados estão identificadas com o símbolo ♦. A árvore filogenética foi construída pelo programa MEGA6, utilizando método *Neighbor-Joining*. Valores de *bootstraps* foram definidos em 1000 réplicas. A escala de barra representa unidades por substituição de nucleotídeos.

## 6 | DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de Norovirus murino

em amostras de fezes de camundongos naturalmente infectados provenientes de colônias convencionais e S.P.F. de biotérios de Universidades públicas ou privadas, Centros de pesquisa e empresas privadas das diferentes regiões geográficas do Brasil.

Desde a sua primeira descrição, MNV tem se apresentado como o patógeno mais prevalente nos biotérios que mantém animais de laboratório para uso nas pesquisas biomédicas <sup>(18, 31, 33, 34, 48, 72, 78)</sup>, porém ainda não haviam dados sobre a identificação e circulação do vírus em biotérios brasileiros

Este é o primeiro relato da identificação de Norovírus murino em biotérios de produção e experimentação no Brasil <sup>(82)</sup>. Os resultados obtidos neste estudo, demonstraram positividade de 29,96% nas amostras analisadas por RT-PCR e apontam a ampla disseminação deste vírus nos biotérios brasileiros, sendo que 86% destes, apresentaram-se positivos para MNV por este método. A porcentagem de amostras positivas que apresentaram anticorpos anti-MNV pela técnica de Imunofluorescência Indireta foi de 26,54%. Estes dados juntamente com os obtidos por RT-PCR indicam que o vírus encontra-se circulante nas colônias de camundongos no Brasil, remetendo a preocupação quanto a qualidade dos animais de produção e experimentação que estão sendo utilizados nos estudos biomédicos desenvolvidos no país.

Visto que MNV é um patógeno de amplitude mundial e alta prevalência, destaca-se a necessidade de um programa de monitoramento sanitário efetivo a fim de evitar experimentos não confiáveis e irreprodutíveis. Considerando o perfil das instituições investigadas, as empresas privadas foram as que apresentaram maior taxa de contaminação. Quanto a finalidade dos biotérios, tanto biotérios de produção, com adoção de sistema de barreiras sanitárias, quanto os biotérios de experimentação com barreiras sanitárias menos severas, contribuíram quase que igualmente para demonstrar a ocorrência de MNV.

O perfil de contaminação pode ser atribuído a diversos fatores que contribuíram para esta disseminação viral. Vale ressaltar a troca de diferentes linhagens entre as instituições de ensino e pesquisa, com destaque para as linhagens geneticamente modificadas, que muitas vezes se apresentam mais susceptíveis á agentes infecciosos. Utilização de material biológico contaminado sem prévia certificação e Importação de matrizes de camundongos, trazidas por diversos pesquisadores e instituições como forma de iniciar as colônias de produção e pesquisas. Isto contribui de forma significativa para a introdução de agentes infecciosos e patogênicos encontrados atualmente nos biotérios <sup>(24,58, 71)</sup>.

Dados relatados por biotérios da Europa, América do Norte e Ásia <sup>(29, 33, 34, 46, 66, 72, 77)</sup>, reforçam a disseminação do MNV nas colônias convencionais e SPF de camundongos mantidos em diferentes instituições, demonstrando que este vírus

é capaz de induzir uma infecção persistente, com excreção de partículas virais por longos períodos e assim contribuindo para a transmissão entre os animais <sup>(93)</sup>. Alguns trabalhos correlacionam a persistência viral com a microbiota intestinal na infecção pelo MNV. Dados sugerem que a microbiota intestinal desempenha um papel importante na capacidade do vírus em estabelecer uma infecção persistente, e o tratamento com antibióticos pode modificar a patogênese da infecção viral <sup>(5, 70)</sup>.

Diante da amplitude de disseminação do MNV e da importância em manter animais com qualidade é imprescindível a adoção de estratégias para o controle desta infecção <sup>(45)</sup>. A descontaminação de salas com solução de dióxido de cloro mostrou ser efetiva, com diminuição de até 0,1% de concentração de partículas virais no ambiente <sup>(31)</sup>. MNV não atravessa a barreira placentária, sendo, portanto, erradicado por métodos como: rederivação cesariana, transferência de embriões e transferência ovariana <sup>(2, 11, 79)</sup>.

Os resultados apontam para a urgente necessidade de adequação da infraestrutura física dos biotérios e inclusão deste agente no programa de monitoramento sanitário, assim como recomendado pela *Federation for Laboratory Animal Science Associations* (FELASA) <sup>(59)</sup>.

## REFERÊNCIAS

1. ALHATLANI, B.; VASHIST, S.; GOODFELLOW, I. **Functions of 5' and 3' Ends of Calicivirus Genomes**. *Virus Research*, v.206, p.134-43, 2015.
2. ARTWOHL, J.E.; PURCELL, J.R.; FORTMAN, J.D. **The Use of Cross-foster Rederivation to Eliminate Murine Norovirus, Helicobacter spp., and Murine Hepatitis Virus from a Mouse Colony**. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* v. 47, n.6, p. 19 – 24, 2008.
3. BAILEY, D.; KARAKASILLOTIS, I.; VASHIST, S.; CHUNG, L.M.W.; REES, J.; MCFADDEN, N. et al. **Functional Analysis of RNA Structures Presents at the 3' Extremity of The Murine Norovirus Genome: The Variable Polypyrimidine Tract Plays a Role In Viral Virulence**. *J Virol*, v.84, p.2859-70, 2010.
4. BAILEY, D.; THACKRAY, L.B.; GOODFELLOW, I. **A Single Amino Acid Substitution in the Murine Norovirus Capsid Protein Is Sufficient for Attenuation In Vivo**. *J Virol*, v. 82, n.15, p.7725-8, 2008.
5. BALDRIDGE, M.; NICE, T.; MCCUNE, B.T.; YOKOYAMA, C.C.; KAMBAL, A.; WHEADON, M.; et al. **Commensal microbes and interferon- determine persistence of enteric murine norovirus infection**. *Science*, v. 347, n.6219, p. 266-69, 2015.
6. BARTSCH, S.M.; LOPMAN, B.A.; OZAWA, S.; HALL, A.J.; LEE, B.Y. **Global economic burden of norovirus gastroenteritis**. *PLoS ONE*, V. 11, e0151219, 2016.
7. BELLLOT, G.; SOSONOTEV, S.V.; CHANG, K.O.; BABU, V.; UCHE, U.; ARNOLD, J.J.; et al. **Norovirus Proteinase Polymerase and Polymerase are Both Active Forms of RNA Dependent RNA Polymerase**. *J Virol*, v.79, n.4, p.2393-403, 2005.
8. BERNSTEIN, D.I., ATMAR, R, L., LYON, G. M., TREANOR, J.J.; et al. **Norovirus vaccine against**

**experimental human GII.4 virus illness: A challenge study in healthy adults.** *J. Infect. Dis.*, v. 211, p. 870-878, 2015.

9. BERTOLOTTI-CIARLET, A.; CRAWFORD, S.E.; HUTSON, A.M.; ESTES, M.K. **The 3' End of Norwalk Virus mRNA Contains Determinants that Regulate the Expression and Stability of the Viral Capsid Protein VP1: A Novel Function for the VP2 Protein.** *J Virol*, v.77, n.21, p. 11603-15, 2003.

10. BHAR, S.; JONES, M.K. **In Vitro Replication of Human Norovirus.** *Viruses*. v.11, n.6, p.547, 2019.

11. BUXBAUM, L.U.; DERITIS, P.C.; CHU, N.; CONTI, P.A. **Eliminating murine norovirus by cross-fostering.** *J Am Assoc Lab Anim Sci*, v.50, n.4, p. 495-499, 2011.

12. CANNON, J.L.; BARCLAY, L.; COLLINS, N.R.; WIKSWO, M.E.; CASTRO, C.J.; MAGAÑA, L.C.; GREGORIUS, N.; MARINE, R.L.; CHHABRA, P.; VINJÉ, J. **Genetic and epidemiologic trends of norovirus outbreaks in the United States from 2013 to 2016 demonstrated emergence of novel GII.4 recombinant viruses.** *J. Clin. Microbiol.*, v.55, p. 2208-2221, 2017.

13. COSTANTINI, V.; MORANTZ, E.K.; BROWNE, H.; ETTAYEBI, K.; ZENG, X.L.; ATMAR, R.L.; ESTES, M.K.; VINJÉ, J. **Human Norovirus Replication In Human Intestinal Enteroids As Model To Evaluate Virus Inactivation.** *Emerg Infect Dis*. v. 24, n.8, p.1453-1464, 2018.

14. COTTON, M.; KOOPMANS, M. **Next generation sequencing and norovirus.** *Future Virology*, v.11, n.11, p. 719-22, 2016.

15. CROMEANS, T.; PARK, G.W.; COSTANTINI, V.; LEE, D.; WANG, Q.; FARKAS, T.; LEE, A.; VINJÉ J. **Comprehensive Comparison Of Cultivable Norovirus Surrogates In Response To Different Inactivation And Disinfection Treatments.** *Appl Environ Microbiol.*, v.80, p.5743–51, 2014.

16. DAUGHENBAUGH, K.F.; WOBUS, C.E.; HARDY, M.E. **VPg of Murine Norovirus Binds Translation Initiation Factors in Infected Cells.** *Virology Journal*, v.3, p.33-39, 2006.

17. DONALDSON, E.F.; LINDESMITH, L.C.; LOBUE, A.D.; BARIC, R.S. **Viral Shape-Shifting: Norovirus Evasion of the Human Immune System.** *Nature Reviews. Microbiology*, v.8, p. 231-41, 2010.

18. DUIZER, E.; SCHWAB, K.J.; NEILL, F.H.; ATMAR, R.L.; KOOPMANS, M.P.; ESTES, M.K. **Laboratory Efforts to Cultivate Noroviruses.** *J Gen Virol*, v.85, p.79-87, 2004.

19. ESTES, M.K.; ETTAYEBI, K.; TENGE, V.R.; et al. **Human Norovirus Cultivation in Nontransformed Stem Cell-Derived Human Intestinal Enteroid Cultures: Success and Challenges.** *Viruses*, v.11, n.7, E638, 2019.

20. ETTAYEB, K.; HARDY, M.E. **Norwalk Virus Nonstructural Protein P48 Forms a Complex with The Snare Regulator VAP-A and Prevents Cell Surface Expression of Vesicular Stomatitis Virus G Protein.** *J Virol*, v.77, p.11790–97, 2003.

21. FARKAS, T.; FEY, B.; KELLER, G.; MARTELLA, V.; EGYED, L. **Molecular detection of murine noroviruses in laboratory and wild mice.** *Vet Microbiol.*, v.160, p. 463-467, 2012.

22. FERNANDEZ-VEGA, V.; SOSNOVTSEV, S.V.; BELLLOT, G.; KING, A.D.; MITRA, T.; GORBALENYA, A.; GREEN, K.Y. **Norwalk Virus N-Terminal Nonstructural Protein is Associated with Disassembly of the Golgi Complex in Transfected Cells.** *J Virol*, v.78, p. 4827-37, 2004.

23. GERONDOPOULOS, A.; JACKSON, T.; MONAGHAN, P.; DOYLE, N.; ROBERTS, L.O. **Murine Norovirus-1 Entry is Mediated Through a Non-Clathrin, Non-Caveolae, Dynamin-, And**

**Cholesterol - Dependent Pathway.** J Gen Virol, v.91, p.1428-38, 2010.

24. GILIOLI R. **Avaliação do perfil sanitário de colônias de camundongos e de ratos em biotérios brasileiros: ocorrência de bactérias, parasitas e vírus murinos.** [Tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia; 2003.

25. GOODFELLOW, I.; CHAUDHRY, Y.; GIOLDASI, I.; GERONDOPOULOS, A.; NATONI, A.; LABRIE, L.; LALIBERTE, J.F.; ROBERTS, L. **Calicivirus Translation Initiation Requires an Interaction Between VPg and eIF4e.** EMBO Reports, v.6, n.10, p. 968 – 972, 2005.

26. GOTO, K.; HAYASHIMOTO, N.; YASUDA, M.; ISHIDA, T.; KAMEDA, S.; TAKAKURA, A.; ITOH, T. **Molecular detection of murine norovirus from experimentally and spontaneously infected mice.** Central Institute for Experimental Animals, v.58, n.2, p. 135-40, 2009.

27. GREEN, K. Y. **Noroviruses and B Cells.** Clinical Infectious Diseases, v.62, n.9, p. 1139-1140, 2016.

28. GREEN, K.Y.; (Ed.) **Caliciviridae: The Noroviruses.** In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. (Eds.), Fields Virology. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, p.582-608, 2013.

29. HANAKI, K.I.; IKE, F.; KAJITA, A.; YASUNO, W.; YANAGIBA, M.; GOTO, M.; SAKAI, K.; AMI, Y.; KYUWA, S. **A broadly reactive one-step SYBR green I real-time RT-PCR assay for rapid detection of murine norovirus.** PLoS One, v.9, n.5, e98108, 2014.

30. HARDY, M.E. **Norovirus Protein Structure and Function.** FEMS Microbiology Letters, v.253, n.1, p. 1-8, 2005.

31. HENDERSON, K. **Murine Norovirus: A Recently Discovered and Highly Prevalent Viral Agent of Mice.** Laboratory Animal, v. 37, n.7, p. 314 – 20, 2008.

32. HSU, C.C.; RILEY, L.K.; LIVINGTON, R.S. **Molecular Characterization of Three Novel Murine Noroviruses.** Virus Genes, v. 34, p. 147–55, 2007.

33. HSU, C.C.; RILEY, L.K.; WILLS, H.M.; LIVINGTON, R.S. **Persistent infection with and serologic cross-reactivity of three novel murine noroviruses.** Comp Med, v.56, p.247–251, 2006.

34. HSU, C.C.; WOBUS, C.E.; STEFFEN, E.K.; RILEY, L.K.; LIVINGSTON, R.S. **Development of a microsphere-based serologic multiplexed fluorescent immunoassay and a reverse transcriptase PCR assay to detect murine norovirus 1 infection in mice.** Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, v.12, p.1145–1151, 2005.

35. HYDE, J.L.; MACKENZIE, J.M. **Pathogenesis and Replication of Norovirus: Following the Mouse Tail?** Under the Microscope, Microbiology, 2012.

36. HYDE, J.L.; SOSNOTEV, S.V.; GREEN, K.Y.; WOBUS, C.E.; VIRGIN, H.W.; MACKENZIE, J.M. **Mouse Norovirus Replication Is Associated with Virus-Induced Vesicle Cluster Originating from Membranes Derived From The Secretory Pathway.** J Virol, v.83, n.19, p. 9709 -19, 2009.

37. JONES, M.K.; GRAU, K.R.; CONSTANTINI, V.; KOLAWOLE, A.O.; DE GRAAF, M.; FREIDEN, P. et al. **Human norovirus culture in B cells.** Nat Protoc. v.10, p. 1939-1947, 2015.

38. KAPIKIAN, A.Z.; WYATT, R.G.; DOLIN, R.; THORNHILL, T.S.; KALICA, A.R.; CHANOCK, R.M. **Visualization by Immune Electron Microscopy of a 27-nm Particle Associated with Acute Infectious Nonbacterial Gastroenteritis.** J Virol, v.10, n.5, p.1075-81,1972.

39. KARANDIKAR, U.; TENGE, V.R.; et al. **Replication of human noroviruses in stem cell-derived**

**human enteroids.** *Science*, v. 353, n.6306, p. 1387–1393, 2016.

40. KARST, M.K. **Pathogenesis of Noroviruses, emerging RNA viruses.** *Viruses*, v. 2, p. 748– 781, 2010.

41. KARST, M.K.; ZHU, S.; GOODFELLOW, I. **The molecular pathology of noroviruses.** *J Pathol*, v. 235, p. 206-216, 2015.

42. KARST, S.M.; WOBUS, C.E. **A Working Model of How Noroviruses Infect the Intestine.** *PLoS Pathogen*, v.11, n.2, E1004626, 2015.

43. KARST, S.M.; WOBUS, C.E.; GOODFELLOW, I.; GREEN, K.Y.; VIRGIN, H.W. **Advances in norovirus biology.** *Cell Host & Microbe*, v.15, p. 668-80, 2014.

44. KARST, S.M.; WOBUS, C.E.; LAY, M.; DAVIDSON, J.; VIRGIN, H.W.T. **STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus.** *Science* v. 299, p. 1575–78, 2003.

45. KASTENMAYER, R.J.; Perdue, K.A.; Elkins, W.R. **Eradication of murine norovirus from a mouse barrier facility.** *J Am Assoc Lab Anim Sci*, v.47, p.26-30, 2008.

46. KERMELSON, J.A.; POMERLEAU, D.P.; GRIFFEY, S.; KAROLAK, M.J.; FAHEY, J.R. **Kinetics of transmission, infectivity, and genome stability of two novel mouse norovirus isolates in breeding mice.** *Comp Med*, v.59, p. 27-36, 2009.

47. KIM, J.R.; SEOK, S.H.; KIM, D.J.; BAEK, M.W.; NA, Y.R.; HAN, J.H.; KIM, T.H.; PARK, J.H.; TURNER, P.V.; CHUNG, D.H.; KANG, B.C. **Prevalence of murine norovirus infection in Korean laboratory animal facilities.** *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 73, n.5, p.687- 691, 2011.

48. KIM, J.R.; SEOK, S.H.; KIM, D.J.; BAEK, M.W.; NA, Y.R.; HAN, J.H.; et al. **Prevalence of murine norovirus infection in Korean laboratory animal facilities.** *J Vet Med Sci.*, v.73, p.687-691, 2011.

49. KITAGAWA, Y.; TOHYA, Y.; IKE, F.; KAJITA, A.; PARK, S.J.; ISHII, Y.; KYUMA, S.; YOSHIKAWA, Y. **Indirect ELISA and indirect immunofluorescent antibody assay for detecting the antibody against murine norovirus S7 mice.** *Experimental Animals*, v.59, n.1, p. 47 – 55, 2010.

50. KITAJIMA, M.; OKA, T.; TOHYA, Y.; KATAYAMA, H.; TAKEDA, N.; KATAYAMA, K. **Development of a broadly reactive nested reverse transcription-PCR assay to detect murine noroviruses, and investigation of the prevalence of murine noroviruses in laboratory mice in Japan.** *Microbiology Immunology*, v.53, p.531-534, 2009.

51. KITWADEE, R.; PORNTIP, C.P.; PORNPHAN, D.; VINJÉ, J.; LEERA, K. **Development of one-step TaqMan quantitative RT-PCR assay for detection of Norovirus genogroups I and II in oyster.** *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, v. 49, n. 6, 2018.

52. KITWADEE, R.; PORNTIP, C.P.; PORNPHAN, D.; VINJÉ, J.; LEERA, K. **Evaluation of a real-time RT-PCR assays for detection and quantification of norovirus genogroups I and II.** *Virologica Sinica*, v.32, n.2, p. 139 – 146, 2017.

53. Kroneman, A.; VEGA, E.; VENNEMA, H.; VINJÉ, J.; WHITE, P.; HANSMAN, G.; GREEN, K. Y.; et al. **Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping.** *Arch Virol* , v. 58, p. 2059 – 68, 2013.

54. KUYUMCU-MARTINEZ, M.; BELLLOT, G.; SOSNOVTSEV, S.V.; CHANG, K.O.; GREEN, K.Y.; LLOYD, R.E. **Calicivirus 3C-Like Proteinase Inhibits Cellular Translation by Cleavage of Poly(A)-Binding Protein.** *J Virol*, v.78, p.8172-82, 2004.

55. LEEN, E.N.; KWOK, K.Y.R.; BIRTLEY, J.R.; SIMPSON, P.J.; SUBBA-REDDY, C.; CHAUDHRY, Y. et al. **Structures of the Compact Helical Core Domains of Feline Calicivirus and Murine Norovirus VPg Proteins.** J Virol, v.87, n.10, p.5318-30, 2013.
56. LENCIONI, K.C.; SEAMONS, A.; TREUTING, P.M.; MAGGIO-PRICE, L.; BRABB, T. **Murine norovirus an intercurrent variable in a mouse model of bacteria-induced inflammatory bowel disease.** Comp Med, v.58, p.522-533, 2008.
57. LINDESMITH, L.C.; McDANIEL, J.R.; CHANGELA, A.; VERARDI, R.; KERR, S. A.; et al. **Sera antibody repertoire analyses reveal mechanisms of broad and pandemic strain neutralizing responses after human norovirus vaccination.** Immunity, v. 50, p. 1530–1541, 2019.
58. MAHABIR, E.; BAUER, B.; SCHMIDT, J. **Rodent and germoplasm trafficking: risks of microbial contamination in a high-tech biomedical world.** ILAR Journal, v. 49, p. 347-55, 2008.
59. MAHLER, M.; BERARD, M.; FEINSTEIN, R.; GALLAGHER, A.; ILLGEN-WILCKE, B.; PRITCHETT-CORNING, K.; RASPA, M. **FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units.** Laboratory Animals, v.48, n.3, p. 178 – 192, 2014.
60. MANJUNATH, S.; KULKARNI, P.G.; NAGAVELU, K.; SAMUEL, R.J.; SRINIVASAN, S.; RAMASAMY, N.; et al. **Sero-prevalence of rodent pathogens in India.** PLoS One, v.10, e0131706, 2015
61. MARRHEWS, J.E.; DICKEY, B.W.; MILLER, R.D. *et al.* **The epidemiology of published norovirus outbreaks: a review of risk factors associated with attack rate and genogroup.** Epidemiol Infect, v.140, n.7, p. 1161-72, 2012.
62. MARTELLA V, CAMPOLO M, LORUSSO E, CAVICCHIO P. et al. **Norovirus in captive lion cub (*Panthera leo*).** Emerg Infect Dis, v.13, p.1071-73, 2007.
63. MCFADDEN, N.; BAILEY, D.; CARRARA, G.; BENSON, A.; CHAUDHRY, Y.; SHORTLAND, A. et al. **Norovirus Regulation of the Innate Immune Response and Apoptosis Occurs Via The Product of the Alternative Open Reading Frame 4.** PLoS Pathogen, v.7, E1002413, 2011.
64. MEYERS, G. **Translation of the Minor Capsid Protein of a Calicivirus is Initiated by A Novel Termination-Dependent Reinitiation Mechanism.** Journal of Biological Chemistry, v. 278, n.36, p.34051 – 60, 2003.
65. MOREIRA, J.C.O.; RODRIGUES, D.M.; GILIOLI, R.; COSTA, F.F.; ALBUQUERQUE, D.M. **A semi-nested RT-PCR assay for detection of norovirus in rat fecal samples.** Exp Anim, v. 68, n.2, p. 169 – 176, 2019.
66. MULLER, B.; KLEMM, U.; MARQUES, A.M.; SCHREIER, E. **Genetic diversity and recombination of murine noroviruses in immunocompromised mice.** Arch Virol, v.152, p. 1709 – 19, 2007.
67. MUMPHREY, S.M.; CHANGOTRA, H.; MOORE, T.N.; HEIMNN-NICHOLS, E.R.; WOBUS, C.E.; REILLY, M.J.; MOGHADAMFALAH, M.; SHUKLA, D.; KARST, S.M. **Murine norovirus 1 infection is associated with histopathological changes in immunocompetent hosts, but clinical disease is prevented by STAT1-dependent interferon responses.** J Virol, v.81, p.3251–63, 2007.
68. MUNNIK, B. B.O.; Hoek-van der, L. **Viruses causing gastroenteritis: the know, the new and those beyond.** Viruses, v.8, n.42, 2016.
69. NAGY, P.D.; POGANY, J. **The Dependence of Viral RNA Replication on Co-Opted Host Factors.** Nat Rev Microbiol, v,10, p.137-49, 2011.

70. NELSON, A.M.; ELFTMAN, M.D.; PINTO, A.K.; BALDRIDGE, M.; HOOPER, P.; et al. **Murine norovirus infection does not cause major disruptions in the murine intestinal microbiota.** *Microbiome*, v.1, p.7, 2013.
71. NICKLAS, W.; KRAFT, V.; MEYER, B. **Contamination of transplantable tumors, cell lines, and monoclonal antibodies with rodent viruses.** *Lab. Anim. Sci*, v.43, n.4, p. 296-300, 1993.
72. OHSUGI, T.; MATSURA, K.; KAWABE, S.; NAKAMURA, N.; KUMAR, J.M.; WAKAMIYA, M.; MORIKAWA, S.; URANO, T. **Natural infection of murine norovirus in conventional and specific pathogen-free laboratory mice.** *Frontiers in Microbiology*, v. 41, n. 12, p. 1 – 6, 2013.
73. OLIVER, S.L.; DASTJERDI, A.M.; WONG, S.; EL-ATTAR, L.; GALLIMORE, C.; BROWN, D.W.; GREEN, J.; BRIDGER, J.C. **Molecular characterization of bovine enteric caliciviruses: a distinct third genogroup of noroviruses (Norwalk-like viruses) unlikely to be of risk to humans.** *J Virol*, v.77, p. 2789-98, 2003.
74. ORCHARD, R.C.; WILEN, C.B.; DOENCH, J.G.; BALDRIDGE, M.T.; MCCUNE, B.T.; LEE, Y.C.J. et al. **Discovery of a proteinaceous cellular receptor for a norovirus.** *Science*, v. 353, n.6302, p. 933-36, 2016.
75. PAIK, J.; FIERCE, Y.; DRIVDAHL, R.; TREUTING, P.M.; SEAMONS, A.; BRABB, T.; MAGGIO-PRICE, L. **Effects of murine norovirus infection on a mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance.** *Comp Med*, v.60, n.3, p. 189-195, 2010.
76. PANG, X.; LEE, B.E. **Laboratory Diagnosis of Noroviruses: Present and Future.** *Clin Lab Med*, v.35, p.345–362, 2015.
77. PERDUE, K.A.; GREEN, K.Y.; COPELAND, M.; BARRON, E.; MANDEL, M.; FAUCETTE, L.J.; WILLIAMS, E.M.; SOSNOVTSEV, S.V.; ELKINS, W.R.; WARD, J.M. **Naturally occurring murine norovirus infection in a large research institution.** *Journal of American Association of Laboratory Animal Science*, v.46, p.39-45, 2007.
78. PRITCHETT-CORNING, K.R.; COSENTINO, J.; CLIFFORD, C.B. **Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats.** *Laboratory Animals*, v.43, p. 165-73, 2009.
79. RASPA, M.; MAHABIR, E.; FRAY, M.; VOLLAND, R.; SCAVIZZI, F. **Lack of transmission of murine norovirus to mice via in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, and ovary transplantation.** *Theriogenology*, v. 86. n. 2, p. 579-88, 2016.
80. RAVINDRAN, R.; KHAN, I.H.; KRISHNAN, V.V.; ZIMAN, M.; KENDALL, L.V.; FRASIER, J.M.; et al. **Validation of multiplex microbead immunoassay for simultaneous serodetection of multiple infectious agents in laboratory mouse.** *J Immunol Meth*, v.363, n.1, p. 51-59, 2010.
81. ROBILOTTI, E.; DERESINSKI, S.; PINSKY, B.A. **NOROVIRUS.** *Clinical Microbiology Reviews* v. 28, n.1, p. 134-64, 2015.
82. RODRIGUES, D.M.; OLIVEIRA-MOREIRA, J.C.; LANCELOTTI, M.; GILIOLI, R.; CORAT, M.A.F. **Murine norovirus infection in Brazilian animal facilities.** *Exp Anim*, v.66, n.2, p. 115-124, 2017.
83. ROYAL, E.; LOCKER, N. **Translational Control During Calicivirus Infection.** *Viruses* v.8, n.4, p.104; DOI:10.3390, 2016.
84. SARVESTANI, S.T.; COTTON, B.; FRITZLAR, S.; O'DONNELL, T.B.; MACKENZIE, J. **Norovirus Infection: Replication, Manipulation of Host, and Interaction with the Host Immune Response.** *Journal of Interferon & Cytokine Research*, v.36, n.4, p.215 -25, 2016.

85. SCIPIONI, A.; MAUROY, A.; VINJÉ, J.; THIRY, E. **Review: Animal Noroviruses.** The Veterinary Journal, v. 178, p. 32 – 45, 2008.
86. SETH, R.B.; SUN, L.; EA, C.K.; CHEN, Z.J. Identification and **Characterization of MAVS, a Mitochondrial Antiviral Signaling Protein that Activates NF-κB and IRF3.** Cell, v.122, n.5, p. 669-82, 2005.
87. SIMMONDS, P.; KARAKASILLOTIS, I.; BAILEY, D.; CHAUDHRY, Y.; EVANS, D.J.; GOODFELLOW, I. **Bioinformatic and Functional Analysis of RNA Secondary Structure Elements among Different Genera of Human and Animal Caliciviruses.** Nucleic Acid Research, v. 36, n.8, p. 2530-46, 2008.
88. SMITH, D.B.; MCFADDEN, N.; BLUNDELL, R.J.; MEREDITH, A.; SIMMONDS, P. **Diversity of murine norovirus in wild-rodent populations: species-specific associations suggest an ancient divergence.** J Gen Virol., v.93, p. 259-266, 2012.
89. **SOSNOTEV, S.V.; BELLLOT, G.; CHANG, K.O.; PRIKHODKO, V.G.; THACKRAY, L.B.; WOBUS, C.E.; et al.** Cleavage Map and Proteolytic Processing of the Murine Norovirus Nonstructural Polyprotein In Infected Cells. **J Virol, p.7816 – 7831, 2006.**
90. SUGIEDA, M.; NAKAJIMA, S. **Viruses detected in the caecum contents of healthy pigs representing a new genetic cluster in genogroup II of the genus “Norwalk-like viruses”.** Virus Research v. 87, p. 165 – 72, 2002.
91. TAN, M.; HUANG, P.; MELLER, J.; ZHONG, W.; FARKAS, T.; JIANG, X. **Mutations Within the P2 Domain of Norovirus Capsid Affect Binding of Human Histo-Blood Group Antigens: Evidence for a Binding Pocket.** J Virol, v.77, p.12562–71, 2003.
92. TAUBE, S.; KOLAWOLE, A.O.; HÖHNE, M.; WILKINSON, J.E.; HANDLEY, S.A.; PERRY, J.W.; et al. **A Mouse Model for Human Norovirus.** mBio, v.4, n.4, E00450-13, 2013.
93. THACKRAY, L.B.; WOBUS, C.E.; CHACHU, K.A.; LIU, B.; ALEGRE, E.R.; HENDERSON, K.S.; KELLEY, S.T.; VIRGIN, H.W.T. **Murine noroviruses comprising a single genogroup exhibit biological diversity despite limited sequence divergence.** J Virol, v.81, p.10460–73, 2007.
94. THORNE, L.G.; GOODFELLOW, I. **Norovirus Gene Expression and Replication.** J Gen Virol, v.95, p. 278-91, 2014.
95. TSE, H.; CHAN, W.M.; LAM, C.S.; LU, S.K.; WOO, P.C. v Yuen KY. **Complete genome sequences of novel rat noroviruses in Hong Kong.** J Virol. v, 86, p. 12435-12436. 2012.
96. TSUNESUMI N, SATO G, IWASA M, KABEYA H, MARUYAMA S, TOHYA Y. **Novel murine norovirus-like genes in wild rodents in Japan.** J Vet Med Sci. V. 74, p. 1221-1224, 2012.
97. VINJÉ, J. **Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus.** J Clin Microbiol, v. 53, n. 2, p. 373-381, 2015.
98. WALKER, P.J.; SIDDLER, S.G.; LEFKOWITZ, E.J. et al. **Changes to virus taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2019).** Archives of Virology v.164, p. 2417–2429, 2019.
99. WANG, Q.W.; COSTANTINI, V.; SAIF, F.L.J. **Porcine enteric caliciviruses: genetic and antigenic relatedness to human caliciviruses, diagnosis and epidemiology.** Vaccine, v. 25, p. 5453-66, 2007.
100. WOBUS, C.E.; KARST, S.M.; THACKRAY, L.B.; CHANG, K.O.; SOSNOVTSEV, S.V.; BELLLOT, G.; KRUG, A.; MACKENZIE, J.M.; GREEN, K.Y.; VIRGIN, H.W. **Replication of Norovirus in Cell Culture Reveals a Tropism for Dendritic Cells and Macrophages.** PLoS BIOLOGY, v.2, E4322004,

2004.

101. WOBUS, C.E.; THACKRAY, L.B.; VIRGIN, H.W. **Murine Norovirus: A Model System to Study Norovirus Biology and Pathogenesis.** J Virol, v.80, n.11, p. 5104-5112, 2006.

102. WOLF, S.; WILLIAMSON, W.M.; HEWITT, J.; RIVERA-ABAN, M.; LIN, S.; BALL, A.; SCHOLLES, P.; GREENING, G.E. **Sensitive multiplex real-time reverse transcription-PCR assay for the detection of human and animal noroviruses in clinical and environmental samples.** Applied Environmental Microbiology, v.73, n.17, p. 5464 – 70, 2007.

103. XI, J.N.; GRAHAM, D.Y.; WANG, K.N.; ESTES, M.K. **Norwalk virus genome cloning and characterization.** Science, v.250, p.1580 – 83, 1990.

104. YUNUS, M.A.; LIN, X.; BAILEY, D.; KARAKASILLOTIS, I.; CHAUDHRY, Y.; VASHIST, S.; ZHANG, G.; et al. **The Murine Norovirus Core Subgenomic RNA Promoter Consists of a Stable Stem-Loop that Can Direct Accurate Initiation of RNA Synthesis.** J Virol, v. 89, n.2, p. 1218-29, 2015.

105. ZAHORSKY, J. **Hyperemesis hiemis or the winter vomiting disease.** Archives of pediatrics, v.46, p.391-95, 1929.

106. ZHU, S.; REGEV, D.; WATANABE, M.; HICKMAN, D.; MOUSSATCHE, N.; JESUS, D.M. et al. **Identification of Immune and Viral Correlates of Norovirus Protective Immunity Through Comparative Study of Intra-Cluster Norovirus Strain.** PLoS Path, v.9, n.9, E1003592, 2013.

107. ZOU, W.Y.; BLUTT, S.E.; CRAWFORD, S.E.; et al. **Human intestinal enteroids: new models to study gastrointestinal virus infections.** Methods Mol Biol. v.1576, p. 229 - 247, 2019.

## NUTRIÇÃO FUNCIONAL COMO ESTRATÉGIA NO TRATAMENTO DE DOENÇAS: USO DA BANANA VERDE

Data de aceite: 19/11/2018

### GREEN BANANA

**Fabiola Pansani Maniglia**

Universidade de Franca (UNIFRAN), Programa de Pós-graduação em Promoção de Saúde. Cursos de Nutrição e Enfermagem.  
Franca – São Paulo

**RESUMO:** Desde a introdução do conceito de alimentos funcionais, diversas aplicações dietéticas vêm sendo praticadas no tratamento de doenças. Apesar de ainda não ser regulamentado como composto com alegação de propriedade funcional, já se sabe que o amido resistente, presente na banana verde, pode conferir ação prebiótica, melhorando a microbiota intestinal. Estudos que utilizaram a banana verde para o tratamento de desordens orgânicas, como problemas intestinais, excesso de peso, hiperglicemia e até intolerância alimentar, foram apresentados e reforçam a importância da dietoterapia.

**PALAVRAS-CHAVE:** amido resistente, nutrição, banana.

### FUNCTIONAL NUTRITION AS A STRATEGY IN TREATMENT OF DISEASES: USE OF

**ABSTRACT:** Since the introduction of the concept of functional foods, various dietary applications have been practiced in the treatment of diseases. Although not yet regulated as a compound with functional property claim, it is already known that the resistant starch present in green bananas may confer prebiotic action, improving the intestinal microbiota. Studies that used green bananas to treat organic disorders, such as intestinal problems, overweight, hyperglycemia and even food intolerance, were presented and reinforce the importance of diet therapy.

**KEYWORDS:** resistant starch, nutrition, banana.

Desde a introdução do conceito de alimentos funcionais no Japão na década de 80, diversas pesquisas têm aplicado estratégias nutricionais como alternativa no tratamento de doenças.

Entende-se por alimento funcional aquele que, além de ser capaz de abastecer o organismo por meio da oferta de energia e nutrientes, é também promotor de algum benefício adicional à saúde. Este benefício é conferido por um elemento denominado

composto bioativo, que pode se tratar de um pigmento carotenoide, uma fibra ou até um óleo.

No Brasil alguns compostos com propriedade funcional reconhecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária são: ômega-3, fitoesteróis, licopeno, beta-glucana, inulina, dentre outros. No entanto, sabe-se que muitas outras substâncias ainda não regulamentadas podem trazer benefícios e devem ter seu consumo garantido por meio de uma dieta diversificada, equilibrada e saudável, como é o caso do amido resistente (ANVISA, 2005).

O amido resistente recebe este nome justamente por resistir ao processo digestivo. Por não sofrer totalmente a ação das enzimas, este amido consegue chegar ao intestino grosso, onde será fermentado pelas inúmeras bactérias que lá habitam, exercendo seu papel prebiótico. Reconhece-se como prebióticos os ingredientes seletivamente fermentados que permitem modificações específicas na composição e/ou atividade da microbiota intestinal, conferindo benefícios à saúde do hospedeiro (WGO, 2011).

Os tipos de amido resistente, bem como suas fontes alimentares, estão apresentados a seguir:

Tipo	Descrição	Fontes alimentares	Digestão
AR 1	Amido fisicamente inacessível	Grãos inteiros ou parcialmente moídos e sementes, leguminosas	Lenta; parcial; total, se moída apropriadamente
AR 2	Grânulos de amido resistente	Batata crua, banana verde, leguminosas	Muito lenta; baixa; total, se recém cozida
AR 3	Amido retrogradado	Batatas cozidas e refrigeradas, flocos de milho	Lenta; parcial; reversível; favorecida pelo reaquecimento
AR 4	Amido modificado	Produtos com amido modificado (alguns pães e bolos)	Pode resistir à hidrólise
AR 5	Complexo amilose-lipídio	Alimentos com alto teor de amilose	Pode resistir à digestão

Figura 1 – Classificação dos tipos de amido resistente. AR: amido resistente.

Adaptado: RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2014.

O papel prebiótico desempenhado pelo amido resistente tem sido relacionado a diversos benefícios para a saúde, como facilitação do funcionamento intestinal, promoção de saciedade e melhora do perfil lipídico e do controle glicêmico, justificando que esta substância deva ter sua ingestão estimulada (JENKINS et al., 1998; RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2014).

Dentre as fontes alimentares que apresentam o amido resistente em sua composição, destaca-se a banana verde.

## A BANANA VERDE

Para ser considerada verde, a banana deve estar nos estágios iniciais do seu processo de maturação, como mostra a ilustração abaixo da Escala de Von Loesecke.



Figura 2 – Escala de maturação de Von Loesecke.

Adaptado: PBMH & PIF, 2006.

A banana verde é bastante consumida em preparações alimentares de diversas regiões do mundo, como em ensopados de milho e carne no Equador, em mescla de comidas dos indígenas peruanos e até mesmo cortada em fatias e frita em Cuba.

Recentemente a banana verde também tem sido empregada na alimentação dos brasileiros na forma de farinha ou de biomassa, a qual resulta do cozimento da polpa da banana verde, em alguns casos batida com água (VALLE; CAMARGOS, 2002; CARMO, 2015).

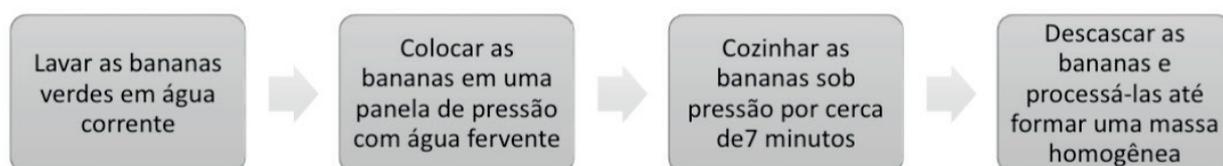


Figura 3 – Processo de obtenção da biomassa de banana verde.

Fonte: própria autora.

Diversos estudos utilizaram a banana verde na elaboração de produtos, como bananada, biscoitos e pães, no intuito de enriquecer os valores nutricionais, substituir ingredientes pouco tolerados ou mesmo conferir ação prebiótica (ZANDONADI, 2009; MELO, 2012; SILVA; JUNIOR; BARBOSA, 2015). Pesquisadores que a aplicaram na concentração de 6% em leite fermentado, observaram que o enriquecimento com a fruta favoreceu a aceitabilidade do sabor e a estabilidade probiótica, ou seja, a capacidade dos microrganismos crescerem e permanecerem vivos (VOGADO, et al., 2018).

Alguns estudiosos atribuem a versatilidade da banana verde ao fato de não promover alteração de sabor nas receitas em que é adicionada. Além disso, o baixo

custo e a facilidade de obtenção, resultante da possibilidade de produção ao longo de todo o ano, que gera quase 7 milhões de toneladas do alimento, fazem a banana ser a fruta mais consumida no Brasil (IBGE, 2016).

O emprego desta fruta como ingrediente funcional para o tratamento de desordens orgânicas já vem sendo praticado. Uma revisão sistemática recentemente publicada na revista *Nutrients* mostrou cinco trabalhos realizados com indivíduos no Brasil que utilizaram a banana verde com alguma finalidade terapêutica. Na sequência serão apresentados os resultados de algumas pesquisas que testaram o uso da banana verde nos tratamentos de problemas intestinais, redução ponderal e hiperglicemia, e na substituição de ingrediente pouco tolerado por público específico.

## USO DA BANANA VERDE NOS PROBLEMAS INTESTINAIS

Um estudo publicado neste ano de 2019, pela pesquisadora Vanessa Mello Granado Cassettari e seus colaboradores, revelou que o consumo diário de 30 gramas de biomassa de banana verde por oito semanas foi capaz de melhorar a consistência das fezes e diminuir o esforço e a dor na defecação em crianças e adolescentes que sofriam de constipação intestinal. Para avaliar a consistência das fezes os pesquisadores utilizaram a Escala Bristol de Forma das Fezes, a qual tem sido empregada em diversos estudos nesta temática.

Resultados positivos também foram publicados em 2018 por pesquisadores que trabalharam com indivíduos em hemodiálise que sofriam de constipação intestinal. Sabe-se que esta população sofre inúmeras restrições alimentares, além da restrição de ingestão hídrica, e que estes fatores interferem negativamente no trânsito intestinal. Os estudiosos testaram então um alimento feito à base de banana verde para auxiliar neste processo e encontraram modificações da consistência das fezes, de acordo com a ferramenta supracitada, Escala Bristol. Tratava-se de um bolo, cuja porção total era de 50 gramas, sendo 24,5 gramas de banana verde cozida (MANIGLIA et al., 2018).

A melhora do sintoma de constipação intestinal a partir do consumo da banana verde é atribuída ao amido resistente e à presença importante de fibras insolúveis. No entanto, o teor de fibras solúveis na fruta também parece ser significativo e atribui a ela uma outra propriedade: a de controlar episódios de diarreia. Estudos realizados na Venezuela e em Bangladesh verificaram redução da diarreia persistente em crianças por meio do consumo da banana verde, reforçando a variedade de possibilidades na sua aplicação dietética (FALCOMER et al., 2019).

## USO DA BANANA VERDE NA REDUÇÃO PONDERAL E CONTROLE GLICÊMICO

Uma vez que o amido resistente presente na banana verde se comporta como uma fibra alimentar, que não sofre o processo de digestão, esta substância também é capaz de promover saciedade e possibilitar uma redução na ingestão alimentar (SLAVIN, GREEN; 2007). O efeito sacietogênico do amido resistente foi evidenciado por pesquisadores que investigaram o consumo semanal de 3 porções de 5 gramas de amido resistente por 6 semanas. Eles encontraram alterações em hormônios relacionados ao apetite e à saciedade, como a grelina e o pepitídeo YY, além de redução da ingestão alimentar (SARDÁ et al., 2016).

Resultados diretamente relacionados ao peso corporal também já foram vistos em um estudo realizado com 30 pacientes diabéticos tipo 2, com Índice de Massa Corporal superior a 30 kg/m<sup>2</sup>, que foram suplementados com 24 gramas de amido resistente da banana por 4 semanas. Os autores da pesquisa encontraram uma redução ponderal de 1,57 kg após a suplementação, resultado significativamente superior ao do grupo controle, no qual a perda foi de apenas 300 gramas. Vale mencionar que além da perda ponderal, também foi verificada uma melhora da sensibilidade à insulina no grupo que utilizou o amido resistente (BLE-CASTILLO et al., 2010).

Outros estudiosos que investigaram o efeito da adição de diferentes tipos de fibras em *shakes*, observaram que a banana verde se mostrou superior ao farelo de aveia e à farinha de linhaça na redução da glicemia pós-prandial em indivíduos saudáveis (CÂNDIDO; TON; ALFENAS, 2014).

Ainda sobre o efeito da banana verde na homeostase da glicose, um estudo conduzido no Brasil investigou as respostas glicêmicas pós-prandiais a partir do consumo de banana verde e de amido resistente isolado da banana verde. Os autores constataram que ambas as suplementações foram eficientes em controlar a elevação da glicemia pós-prandial dos participantes, no entanto, o amido resistente isolado mostrou resultado superior, em função da diferença da sua concentração (40 gramas), quando comparado à farinha de banana verde (6,5 gramas) (MENEZES et al., 2010).

Outro estudo nacional evidenciou benefícios em mulheres acima do peso que consumiram 20 gramas de farinha de banana verde por 45 dias. As participantes da pesquisa apresentaram redução da circunferência da cintura, além da diminuição da pressão sistólica e da glicemia de jejum (DA SILVA et al., 2014).

## USO DA BANANA VERDE COMO SUBSTITUTO DE INGREDIENTE PARA PÚBLICO COM NECESSIDADE ESPECÍFICA

Indivíduos com doenças ou sensibilidades intestinais sofrem inúmeras restrições dietéticas a fim de minimizar os sintomas causados pelos agentes agressores presentes nos alimentos. Um exemplo clássico são os pacientes que sofrem com a Doença Celíaca, que se caracteriza por uma intolerância permanente ao glúten. Uma vez que o glúten está contido em cereais como o trigo, a cevada e o centeio e, em alguns casos até na aveia, sua restrição se torna difícil e limita as opções de alimentos que podem ser consumidos pelo indivíduo que apresenta a enteropatia supracitada.

Pensando em criar alternativas para o consumo alimentar daqueles que sofrem restrições ao glúten, o Grupo de Pesquisa em Qualidade Nutricional e Alimentar, do Departamento de Nutrição da Universidade de Brasília decidiu desenvolver uma massa de banana verde como substituta da receita tradicional feita com trigo.

Os pesquisadores utilizaram os seguintes ingredientes para a massa de banana verde: farinha de banana verde (47%), clara de ovos (31,5%), água (16,4%), goma guar (2,5% e goma xantana (2,5%). Já a receita tradicional, objeto de comparação, foi composta de: farinha de trigo integral (60,6%) e ovos (39,4%). Constatou-se que a massa à base de banana verde não se diferiu da tradicional quanto às características de aparência, aroma e sabor, além disso, apresentou uma redução no teor de lipídios de 98% (ZANDONADI et al., 2012). Estudos como este mostram que é possível empregar ingredientes funcionais que possibilitem maior diversidade nas escolhas alimentares dos indivíduos com intolerâncias alimentares.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta leitura nos permite entender o alimento e a nutrição nas suas mais abrangentes funções, incluindo a terapêutica.

O uso da banana verde nas diferentes pesquisas citadas nos mostra que o alimento é capaz de promover benefícios em órgãos e sistemas distintos, além de permitir maior possibilidade de escolhas entre as pessoas que sofrem restrições alimentares.

Acredita-se que a difusão do conhecimento sobre os alimentos com propriedades funcionais possa auxiliar no tratamento de doenças e colaborar para a melhora da qualidade de vida das pessoas.

## REFERÊNCIAS

- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. (Brasil). Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/ Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em 11 de janeiro de 2005. VIII-Lista das Alegações Aprovadas.
- BLE-CASTILLO, J. L. et al. **Effects of Native Banana Starch Supplementation on Body Weight and Insulin Sensitivity in Obese Type 2 Diabetics**. *Int J Environ Res Public Health*, v.7, n. 5, p. 1953–1962, 2010.
- CÂNDIDO, F. G.; TON, W. T. S.; ALFENAS, R. C. G. **Addition of dietary fiber sources to shakes reduces postprandial glycemia and alters food intake**. *Nutr Hosp*, v.31, n.1, p.299-306, 2014.
- CARMO, A. F. S. **Propriedades funcionais da biomassa e farinha de banana verde**. Lorena: Universidade de São Paulo, 2015.
- CASSETTARI, V. M. G. et al. **Combinações de laxantes e biomassa de banana verde no tratamento de constipação funcional em crianças e adolescentes: estudo randomizado**. *J. Pediatr*, v.95, n.1, p.27-33, 2019.
- DA SILVA, S. T. et al. **Women with metabolic syndrome improve anthropometric and biochemical parameters with green banana flour consumption**. *Nutr Hosp*, v. 29, n.5, p. 1070-1080, 2014.
- FALCOMER, A. L.; RIQUETTE, R. F. R.; DE LIMA, B. R.; GINANI, V. C.; ZANDONADI, R. P. **Health Benefits of Green Banana Consumption: A Systematic Review**. *Nutrients*, v. 11, n. 1222, 2019.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levant. Sistem. Prod. Agríc**. Rio de Janeiro, v.29 n.12 p.1-82, 2016.
- JENKINS, J. A. et al. **Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycaemic index**. *Journal of the American College of Nutrition*, v.17, n.6, p.609-616, 1998.
- MANIGLIA, F. P.; ARAGON, D. C.; NAKAO, L. S.; DOLENGA, C. J. R.; DA COSTA, J. A. C. **Development of a Green Banana-based Food and the Effects of Its Consumption on the Intestinal Transit of Hemodialysis Patients**. *Journal of Food and Nutrition Research*, v. 6, n. 5, p.341-345, 2018.
- MELO, A. C. P. A. **Desenvolvimento, avaliação físico-química e sensorial de bananada com propriedades funcionais**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.
- MENEZES, E. W.; DAN, M. C. T.; CARDENETTE, G. H. L.; GOÑI, I.; BELLO-PÉREZ, L. A.; LAJOLO, F. M. **In Vitro Colonic Fermentation and Glycemic Response of Different Kinds of Unripe Banana Flour**. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 65, n.4, p. 379-385, 2010.
- PBMH & PIF - PROGRAMA BRASILEIRO PARA A MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA & PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS. **Normas de Classificação de Banana**. São Paulo: CEAGESP, 2006.
- RAIGOND, P.; EZEKIEL, R.; RAIGOND, B. **Resistant starch in food: a review**. *J Sci Food Agric*, v.95, p.1968-1978, 2015.
- SARDÁ, F. A. H. et al. **Impact of resistant starch from unripe banana flour on hunger, satiety, and glucose homeostasis in healthy volunteers**. *J. Funct. Foods*, v. 24, p.63-74, 2016.

SLAVIN, J. L.; GREEN, H. **Dietary Fibre and satiety**. Nutr. Bull, v. 32, p. 32-42, 2007.

SILVA, A. A.; JUNIOR, J. L. B.; BARBOSA, M. I. M. J. **Farinha de banana verde como ingrediente funcional em produtos alimentícios**. Ciência Rural, v.45, n.12, p.2252-2258, 2015.

VALLE, H. F.; CAMARGOS, M. **Yes, nós temos banana**. São Paulo: Editora Senac, 2002.

VOGADO, C. O.; LEANDRO, E. S.; ZANDONADI, R. P.; DE ALENCAR, E. R.; GINANI, V. C.; NAKANO, E. Y. et al. **Enrichment of Probiotic Fermented Milk with Green Banana Pulp: Characterization Microbiological, Physicochemical and Sensory**. Nutrients, v.10, n.427, 2018.

WGO - WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION. **Probióticos e prebióticos**. 2011.

ZANDONADI, R. P. **Massa de banana verde: uma alternativa para a exclusão do gluten**. Brasília: Universidade de Brasília, 2009.

ZANDONADI, R. P.; BOTELHO, R. B. A.; GANDOLFI, L.; GINANI, J. S.; MONTENEGRO, F. M.; PRATESI, R. **Green Banana Pasta: An Alternative for Gluten-FreeDiets**. Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, v. 12, n. 7, 2012.

## DENGUE GRAVE: REVISÃO DO ESTADO DA ARTE FOCADA NA IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES PRECOSES DE GRAVIDADE

Data de aceite: 19/11/2018

### **Bianca de Santis Gonçalves**

Laboratório de Flavivirus, Instituto Oswaldo Cruz/  
FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ

### **Marco Aurélio Pereira Horta**

Plataforma NB3, Instituto Oswaldo Cruz/  
FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ

### **Rita Maria Ribeiro Nogueira**

Laboratório de Flavivirus, Instituto Oswaldo Cruz/  
FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ

### **Ana Maria Bispo de Filippis**

Laboratório de Flavivirus, Instituto Oswaldo Cruz/  
FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ

**RESUMO:** A infecção por DENV pode ser assintomática ou sintomática, variando de uma forma branda a formas graves, como a febre hemorrágica da dengue e a síndrome do choque da dengue. Em 2009, a OMS estabeleceu um novo critério de classificação de casos que tem por objetivo aprimorar a triagem e o tratamento adequado aos pacientes. De acordo com esses critérios, os pacientes são classificados em dengue com sinais de alerta, dengue sem sinais de alerta e dengue grave. A detecção precoce de dengue grave em pacientes sem sinais de alerta que podem evoluir para a forma hemorrágica grave é fundamental para

a escolha de uma terapia de suporte intensivo apropriada, uma vez que vacinas ou terapias específicas com eficácia comprovada não estão disponíveis. Este capítulo tem como objetivo apresentar o estado da arte quanto à dengue grave, com ênfase à busca por biomarcadores precoces da gravidade da doença. Diante do cenário hiperendêmico da dengue em muitas regiões do mundo, e tendo em vista que se tem acumulado um grande número de suscetíveis à infecção pelos quatro sorotipos co-circulantes ao longo de vários anos, a detecção precoce da forma grave da dengue através de biomarcadores é muito importante para mitigar as consequências para populações hiperendêmicas e, principalmente, diminuir o óbito pela doença.

**PALAVRAS-CHAVE:** dengue; dengue grave; biomarcadores; DENV; detecção precoce.

### SEVERE DENGUE FEVER: A STATE-OF-THE-ART REVIEW FOCUSED IN EARLY BIOMARKERS OF SEVERITY

**ABSTRACT:** DENV infection can be asymptomatic or symptomatic, ranging from mild to severe forms, such as dengue hemorrhagic fever and dengue shock syndrome. In 2009, WHO established a new case classification

criteria that aims to improve screening and appropriate treatment for patients. According to these criteria, patients are classified as dengue with warning signs, dengue without warning signs and severe dengue. Early detection of severe dengue in patients with no warning signs that may progress to severe hemorrhagic form is critical for the choice of appropriate intensive supportive therapy, since vaccines or specific therapies with proven efficacy are not available. This chapter aims to present the state of the art regarding severe dengue, with emphasis on the search for early biomarkers of disease severity. Given the hyperendemic scenario of dengue in many regions of the world, and given that a large number of susceptible to infection by the four co-circulating serotypes have accumulated over several years, early detection of severe form of dengue through biomarkers is very important to mitigate the consequences for hyperendemic populations and, especially, to reduce death from the disease.

**KEYWORDS:** dengue; severe dengue; biomarkers; DENV; early detection.

## 1 | INTRODUÇÃO

A dengue é uma arbovirose aguda e sistêmica que se estabeleceu globalmente na transmissão de ciclos endêmicos e epidêmicos. A doença é encontrada em regiões tropicais e subtropicais do mundo e é causada por um dos quatro sorotipos de vírus da dengue (DENV-1–DENV-4). Um aumento na infecção foi observado nos últimos anos devido a muitos fatores, incluindo urbanização e viagens aéreas. Mais de 2,5 bilhões de pessoas da população mundial estão agora em área de risco de infecção.

A infecção pelo DENV apresenta um amplo espectro de manifestações, incluindo a forma assintomática e a forma sintomática: dengue (forma não-grave), formas graves, com manifestações hemorrágicas e choque em indivíduos afetados. Apesar das teorias que buscam explicar a ocorrência de casos graves de dengue, os fatores que levam algumas infecções a se apresentarem brandas e outras graves ainda não estão esclarecidos.

A forma não-grave da dengue, ou dengue sem sinais de alerta, é considerada uma doença de jovens e adultos, autolimitante e raramente fatal (GUBLER, 1998). A fase aguda costuma durar de 3 a 7 dias, mas a fase convalescente pode ser prolongada por semanas, e não há registros de sequelas associadas à infecção. É caracterizada pelo início súbito de febre e por uma série de sinais e sintomas inespecíficos, como dor de cabeça, dor retro-orbitária, mialgia, náusea e vômito, dores articulares, fraqueza, inapetência e erupções cutâneas (HAYES & GUBLER, 1992).

As manifestações clínicas da dengue grave incluem o extravasamento plasmático, derrame cavitário com dificuldade respiratória, hemorragia grave,

comprometimento de órgãos, especialmente do fígado, e o envolvimento do sistema nervoso central (SNC), podendo levar à perda da consciência (WHO/TDR, 2009). O extravasamento plasmático é causado pelo aumento difuso na permeabilidade vascular e apresenta-se como uma combinação da hemoconcentração com efusão pleural ou ascite (KALAYANAROOJ et al., 1997). O extravasamento plasmático torna-se evidente entre o 3º e o 7º dia de doença, correspondendo ao tempo que os pacientes com dengue não-grave levariam até a recuperação (NIMMANNITYA, 1987). O volume de sangue circulante é reduzido, o que pode resultar em choque. A tendência à hemorragia está relacionada à fragilidade capilar e à trombocitopenia. As manifestações hemorrágicas variam, desde um teste de torniquete positivo a hemorragias gastrointestinais com risco de vida (ROTHMAN & ENNIS, 1999). O comprometimento hepático dá-se pela hepatomegalia e pelos níveis elevados de transaminases no soro. O padrão dessas manifestações clínicas e os achados patológicos correspondentes sugerem que os fatores do hospedeiro desempenham um papel primordial na patogênese da dengue grave (ROTHMAN & ENNIS, 1999).

Outros fatores foram postulados como importantes na patogênese da dengue grave com manifestações hemorrágicas. Entre eles: 1) existência de genótipos virulentos específicos que se replicam em níveis elevados resultando em aumento da resposta imune e aumento da doença; 2) predisposição genética à doença grave em certas populações; e 3) outros fatores de risco, como idade, sexo e nutrição (LEITMEYER et al., 1999).

Evidentemente, os mecanismos que causam a dengue grave não atuam isoladamente, haja vista a importância atribuída às diferenças entre cepas virais na determinação da incidência da forma grave da doença, além de fatores de risco individuais do hospedeiro e de fatores epidemiológicos (RICO-HESSE et al., 1997).

## 2 | PATOGENIA DA DENGUE

Depois de um período de incubação de quatro a oito dias, a infecção por qualquer um dos quatro sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) pode produzir um amplo espectro de sinais clínicos e sintomas, desde uma doença febril leve, classificada como dengue sem sinais de alerta, até a doença com manifestações hemorrágicas graves e choque, classificada como dengue grave, sendo a maioria das infecções assintomáticas ou subclínicas (GUZMÁN & HARRIS, 2015).

A doença tem início súbito seguido por três fases: febre, fase crítica e recuperação (GUZMÁN & HARRIS, 2015). O período crítico ocorre em torno da defervescência, quando dá-se um aumento na permeabilidade capilar acompanhada pelo aumento no hematócrito, podendo levar ao choque hipovolêmico, que pode resultar em falência dos órgãos, acidose metabólica, coagulação intravascular

disseminada e hemorragia grave (GUZMÁN & HARRIS, 2015). Além disso, a dengue grave pode desenvolver hepatite, desordens neurológicas, miocardite ou sangramento grave sem extravasamento plasmático ou choque (GUZMÁN & HARRIS, 2015). Se não tratada, a forma grave da dengue pode levar cerca de 20% dos pacientes a óbito, enquanto o manejo clínico adequado e a reidratação intravenosa podem reduzir a mortalidade a menos de 1,9% (WHO/TDR, 2009).

A maioria dos pacientes recupera-se sem complicações após o período virêmico em que o quadro clínico se manifesta, enquanto, em um pequeno número de pacientes, a doença evolui para a dengue grave, caracterizada por extravasamento plasmático com ou sem sangramento (GUZMÁN & HARRIS, 2015).

O primeiro indício de uma possível relação entre fatores imunológicos do indivíduo para o acometimento da forma grave da dengue deu-se em 1960. Em um estudo realizado na Tailândia, foi observado que 85% das crianças com dengue grave apresentavam altos títulos de anticorpos para mais de um sorotipo de DENV, sugerindo infecções secundárias (HALSTEAD et al., 1970). Esse fato levantou a hipótese de que a forma grave da dengue seria mais comum em infecções secundárias pelo DENV do que em infecções primárias. Vários estudos na época corroboraram essa hipótese (THEIN et al., 1997).

Estudos epidemiológicos mostram que a dengue grave está fortemente associada não só à infecção secundária, causada por um sorotipo heterólogo, como também à infecção primária de bebês com baixas concentrações de anticorpos maternos anti-DENV presentes no soro (HALSTEAD, 1988).

Algumas teorias, que não são mutuamente exclusivas, buscam explicar a ocorrência da forma grave da dengue. Entre elas, a Teoria de Halstead é conhecida como a hipótese da infecção secundária ou ADE (*Antibody Dependent Enhancement*). Esta teoria relaciona a forma grave da doença a infecções sequenciais por diferentes sorotipos, com intervalos de três meses a cinco anos, e atribui a gravidade da dengue à ocorrência da resposta imunológica exacerbada durante a infecção secundária (HALSTEAD, 1988). Segundo essa teoria, os pacientes que experimentam uma segunda infecção por um sorotipo de vírus da dengue heterólogo têm um risco significativamente maior de desenvolver dengue grave (HALSTEAD, 1988). Os anticorpos heterólogos pré-existentes reconhecem o vírus infectante e formam um complexo antígeno-anticorpo, que é então ligado e internalizado por receptores Fc da imunoglobulina na membrana celular de leucócitos, especialmente macrófagos. Como o anticorpo é heterólogo, o vírus não é neutralizado, permanecendo livre para replicar dentro dos macrófagos. Acredita-se que essas células produzem e secretam mediadores vasoativos em resposta à infecção por DENV, o que provoca maior permeabilidade vascular, levando à hipovolemia e ao choque (GUBLER, 1998).

A participação dos linfócitos T de memória ativados em uma infecção

secundária com sorotipos heterólogos pode contribuir para o desenvolvimento da dengue grave com manifestações hemorrágicas em um modelo conhecido como teoria do pecado original de células T (*Original Antigenic Sin*) (INOUE et al., 1984). Durante uma infecção secundária, as células T entram em contato com macrófagos infectados e tornam-se ativadas. Os linfócitos T ativados apresentam uma resposta imune inapropriada para um sorotipo heterólogo, devido à expansão clonal de células T de memória de reatividade cruzada. Estas células possuem baixa afinidade para o sorotipo do vírus causador da infecção, produção alterada de citocinas e, conseqüentemente, tornam-se ineficientes para eliminar o vírus, aumentando assim a viremia e contribuindo para o desenvolvimento da febre hemorrágica da dengue (FHD). A ativação imune excessiva cria uma cascata de produção de citocinas (produção excessiva ou perfil distorcido de liberação de citocinas) resultando em aumento da permeabilidade vascular: uma “tempestade de citocinas” (RATHAKRISHNAN et al., 2012). Foi demonstrado que, em muitos pacientes com infecção secundária heteróloga aguda pelo DENV, os linfócitos T CD8+ gerados ligam-se fracamente ao Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC), os quais apresentam epítomos do vírus causador da infecção. Ao contrário, estes linfócitos ligam-se mais fortemente aos epítomos do vírus causador da primeira infecção, além de apresentarem um fenótipo apoptótico que parece destinar estas células à morte celular programada antes de exercerem sua função antiviral e controlarem a infecção (NIELSEN, 2009). Uma das conseqüências da infecção secundária e ativação de células T é a produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (STEPHENSON, 2005). A participação de linfócitos T, juntamente com a produção de citocinas e mediadores químicos, apresenta efeito sinérgico, o qual aumenta a permeabilidade vascular, a indução de trombocitopenia e a ocorrência de hemorragia, contribuindo para o desenvolvimento da dengue grave (MARTINA et al., 2009).

A Teoria de Rosen ressalta o fato de existirem algumas cepas de vírus com maior potencial epidêmico, e pressupõe que o DENV, como todos os vírus que infectam animais, varia e se altera geneticamente como resultado de pressões de seleção enquanto se replica em seres humanos e/ou mosquitos (RICO-HESSE, 1997). A expressão fenotípica de alterações genéticas no genoma do vírus pode incluir aumento da replicação do vírus e da viremia, gravidade da doença (virulência) e potencial epidêmico (GUBLER, 1998).

Uma terceira teoria, a Teoria Integral de Multicausalidade, proposta por Kouri e colaboradores (1987), propõe que nenhuma das duas teorias anteriores, em conjunto ou isoladamente, pode explicar todas as situações ou casos de dengue grave, uma vez que os autores acreditam que é necessário haver a interação de fatores epidemiológicos, individuais e virais. Alguns fatores de risco individuais,

como raça, sexo, idade e doenças crônicas, são fatores predisponentes que tornam a doença mais frequente em determinada faixa etária ou raça. Os autores acreditam que a pré-existência de anticorpos é o fator de risco individual principal, porém não o único, para a ocorrência da doença. Fatores de risco individuais determinam o surgimento da doença em um indivíduo particular e em uma determinada população. A presença ou ausência desses fatores de risco individuais, em meio aos fatores virais e epidemiológicos, determina se o indivíduo com infecção secundária vai desenvolver dengue grave (KOURI et al., 1987).

Dessa forma, a interação de vários fatores de risco, como fatores imunológicos do hospedeiro, a vários fatores virais, como infecções sequenciais e a virulência da cepa infectante, estão envolvidos na patogênese da forma grave da dengue (GUBLER, 1998).

### 3 | CLASSIFICAÇÃO DOS CASOS DE DENGUE

A OMS desenvolveu um sistema de classificação dos casos de dengue em 1997, segundo o qual as apresentações clínicas de dengue foram agrupadas como febre da dengue (FD), febre hemorrágica da dengue (FHD) e síndrome do choque por dengue (SCD). A FHD é dividida em 4 graus. Os graus I e II são classificados como FHD, e os graus III e IV são considerados SCD.

No entanto, alguns estudos mostraram que a aplicação deste sistema de classificação é um desafio nas áreas de endemia de dengue. O aparecimento de diferentes manifestações, como a dengue com hemorragia, mas sem extravasamento plasmático, ou dengue com choque, mas sem cumprir os 4 critérios da FHD (febre de 2-7 dias, tendência a hemorragia mostrada pela prova do laço positivo ou sangramento espontâneo, trombocitopenia  $\leq 100.000$  plaquetas/mm<sup>3</sup> e evidência de extravasamento plasmático), coloca dificuldades aos clínicos na aplicação do esquema de classificação de casos. Os principais problemas identificados foram a rigidez das definições, baixa sensibilidade e dificuldade experimentada por alguns clínicos para diferenciar FHD de FD, uma vez que os parâmetros laboratoriais clínicos e básicos se sobrepõem em alguns casos (HADINEGORO, 2012).

Em 2009, a OMS revisou a classificação da dengue e um novo esquema foi proposto. Os casos de dengue passaram a ser classificados em dengue sem sinais de alerta, dengue com sinais de alerta e dengue grave (WHO/TDR, 2009). A orientação revisada busca aprimorar a triagem e o tratamento adequado, uma vez que a identificação precoce dos sinais de alerta para o manejo clínico efetivo visa ao bom prognóstico do paciente, além de permitir a triagem correta dos casos (GUZMÁN & HARRIS, 2015).

Muitos estudos apontam o aumento da sensibilidade para identificação de

casos graves com a classificação revisada (TSAI et al., 2013). Não obstante, alguns autores acreditam que o novo sistema poderia reduzir a ênfase quanto à síndrome do extravasamento plasmático, além de contribuir para o aumento do número de casos em países endêmicos e com poucos recursos (SRKIATKHACHORN et al., 2011).

O Brasil adotou a nova classificação de casos de dengue, revisada pela OMS, em 2014 (BRASIL, 2015). Segundo a OMS, um caso provável de dengue, classificado como dengue sem sinais de alerta, é caracterizado quando o paciente é residente ou viaja para área endêmica de dengue e apresenta febre e mais dois dos seguintes sinais ou sintomas: náusea, vômito, rash cutâneo, dores, prova do laço positiva e leucopenia (WHO/TDR, 2009). Deve haver a confirmação laboratorial da dengue, principalmente quando há sinal de extravasamento do plasma.

Os casos classificados como dengue com sinais de alerta requerem observação e intervenção médica. São sinais de alerta: dor abdominal, vômito persistente, derrame cavitário, sangramento de mucosa, letargia, inquietação, fígado aumentado (hepatomegalia), hematócrito elevado com simultânea plaquetopenia (WHO/TDR, 2009).

Já os casos classificados como dengue grave são aqueles em que verificam-se: 1) extravasamento grave de plasma, ocasionando choque (síndrome do choque por dengue) e derrame cavitário com dificuldade respiratória; 2) hemorragia grave (de acordo com a avaliação médica); 3) envolvimento de órgãos, com alteração das enzimas hepáticas ALT e AST; 4) envolvimento do SNC com o comprometimento da consciência, prejuízo da atividade do coração e outros órgãos (WHO/TDR, 2009) (Figura 1).



Figura 1. Critérios da nova classificação clínica de casos de dengue. Adaptado de OMS (2009).

## 4 | BIOMARCADORES DE GRAVIDADE DA DENGUE

Estudos acerca da patogenia da forma grave da dengue podem proporcionar novos alvos para a prevenção e o controle da doença. A identificação precoce da dengue grave em pacientes sem sinais de alerta que possam desenvolver a forma grave é muito importante. Esses pacientes precisam ter o melhor atendimento de apoio, uma vez que não existe terapia antiviral contra a infecção pelo DENV, e que a vacina comercial *Dengvaxia*, ainda não foi licenciada para imunização em todos os países endêmicos (RECKER et al., 2016). Entretanto, o mecanismo pelo qual apenas alguns indivíduos evoluem para a forma grave da dengue ainda é pouco compreendido.

Sabe-se que a minoria dos pacientes desenvolve a forma grave da dengue, cuja característica principal é o extravasamento plasmático, que leva à perda de volume intravascular e à insuficiência. Manifestações hemorrágicas são comuns tanto na forma não-grave da dengue quanto na forma grave, porém hemorragias graves, particularmente a hemorragia do trato gastrointestinal, são encontradas com maior frequência na dengue grave (NIMMANNITYA, 1993).

As manifestações clínicas são os primeiros marcadores na previsão da forma grave da dengue: sangramento de mucosa, náusea e vômito, dor abdominal intensa, erupções cutâneas e hepatoesplenomegalia (JOHN et al., 2015). De acordo com a classificação de 2009, os pacientes com dengue estão divididos em um grupo, com sinais de alerta, incluindo dor abdominal, hemorragia de mucosa e hepatomegalia, que justificam a admissão na UTI, e em outro grupo, sem esses sinais (WHO/TDR, 2009).

Devido à ausência de um modelo animal que possa reproduzir a dengue em seres humanos, alguns estudos clínicos têm sido fundamentais para o entendimento da patogênese da doença (SRIKIATKHACHORN & GREEN, 2010). Inúmeros estudos têm buscado a identificação de parâmetros biológicos em amostras clínicas de casos graves e não-graves de dengue (SRIKIATKHACHORN & GREEN, 2010). Estudos que procuram marcadores biológicos podem apontar preditores que identifiquem os casos que eventualmente evoluirão para a forma grave da doença, o que é crucial, já que não há parâmetros clínicos ou laboratoriais empregados na rotina de diagnóstico que possam prever o desenvolvimento da dengue grave no indivíduo (SRIKIATKHACHORN & GREEN, 2010).

Um biomarcador ideal deveria ser capaz de identificar indivíduos que possam vir a desenvolver dengue grave (JOHN et al., 2015). Considera-se que o fator principal responsável pela patogenia da dengue ainda é a resposta imune aumentada do hospedeiro (citocinas produzidas de forma exacerbada pelas células imunes do hospedeiro) (JOHN et al., 2015). Observou-se em vários estudos que as infecções

sequenciais ou secundárias do DENV são mais propensas a produzir doença grave. Acredita-se que um fator de risco na infecção secundária seja o processo que envolve extravasamento plasmático, choque e manifestações hemorrágicas, iniciado com a facilitação da infecção pelo DENV com a ajuda de anticorpos opsonizantes, resultando na resposta imune alterada que desencadeia a ativação de células T e a liberação de citocinas e mediadores químicos (NIELSEN, 2009). Entretanto, nos indivíduos imunocomprometidos ou com infecção primária, alguns fatores ainda não definidos podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento da forma grave da dengue (PERNG & CHOKEPHAIBULKIT, 2013). Um exemplo é o fato de pacientes com dengue apresentarem febre e os demais sinais da forma não-grave durante o pico da viremia, enquanto os sinais de gravidade, como as manifestações hemorrágicas e o choque, surgirem quando o DENV não está mais na circulação, sugerindo que a forma grave está mais associada à imunopatologia (JOHN et al., 2015).

Para a gravidade da dengue, vários estudos clínicos indicaram a existência de marcadores clínicos e biológicos (durante a fase aguda, durante a fase de defervescência e durante a fase tardia). Considerando os marcadores clínicos, a contagem de plaquetas ( $<100.000/\text{mm}^3$ ) não pode ser considerada um marcador precoce para a gravidade da dengue. Existe um progressivo declínio do número de plaquetas durante a fase febril, tanto nos casos graves quanto nos casos não-graves, atingindo o limiar mais baixo no momento da defervescência em ambas as formas de gravidade, e coincidindo com o extravasamento plasmático em pacientes com dengue grave (SRIKIATKHACHORN & GREEN, 2010). O aumento observado na quantificação das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato transaminase (AST) é considerado um marcador precoce da gravidade da dengue (SRIKIATKHACHORN & GREEN, 2010).

Considerando os marcadores biológicos durante a fase febril aguda, a carga viral aumentada, assim como níveis do antígeno NS1 em amostras biológicas foram descritos como fatores de risco para a dengue grave e podem ser empregados como indicadores precoces da gravidade da doença (Figs. 2 e 3).

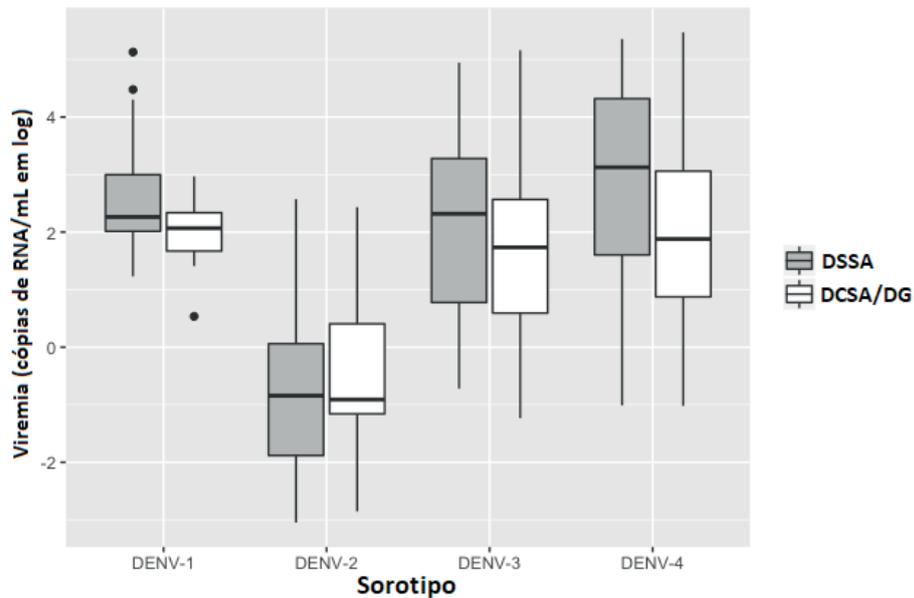


Figura 2. Carga viral (média) em pacientes apresentando dengue sem sinais de alerta (DSSA) (n=164) e dengue com sinais de alerta/dengue grave (DCSA/DG) (n=98) de acordo com o sorotipo infectante. Fonte: Gonçalves et al. (2019a).

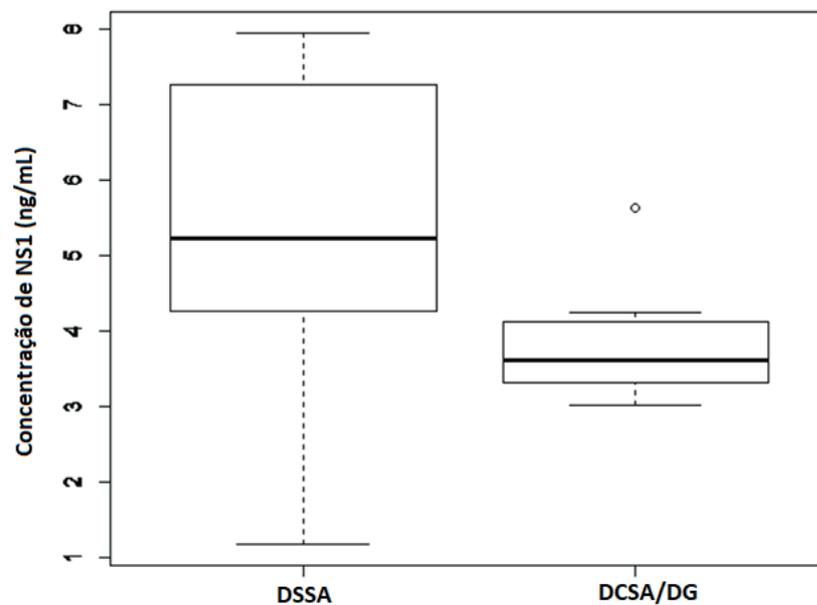


Figura 3. Níveis circulantes de NS1 em pacientes infectados pelo DENV-2 de acordo com a apresentação clínica. DENV, vírus da dengue; DSSA, dengue sem sinais de alerta; DCSA/DG, dengue com sinais de alerta/dengue grave. Fonte: Gonçalves et al.(2019b).

O pico da viremia ocorre precocemente no curso da doença, seguido por uma queda significativa nos títulos virais durante a defervescência. O antígeno NS1 ativa o sistema complemento, e sua atividade é facilitada pela presença de anticorpos anti-DENV específicos (AVIRUTNAN et al., 2006).

Para John e colaboradores (2015), os seguintes biomarcadores devem ser ressaltados como preditores da forma grave da dengue: marcadores de ativação

imunológica, como o número e o estado de ativação das células imunes, níveis aumentados de citocinas e quimiocinas, o sistema complemento, anticorpos e outros fatores solúveis, assim como marcadores de ativação endotelial, marcadores bioquímicos e marcadores genéticos do hospedeiro.

Resumidamente, de acordo com Pang e colaboradores (2017), os mecanismos envolvidos na patogênese da dengue grave incluem a glicoproteína NS1 e os anticorpos anti-NS1, a variação do genoma viral, o RNA de flavivírus subgenômico (sfRNA), o fenômeno ADE e a presença de células T de memória que reagem cruzadamente. A NS1 e seus anticorpos anti-NS1 contribuem para a patogênese da dengue grave pela ativação do sistema complemento e subsequente indução da produção de citocinas inflamatórias, induzindo autofagia na célula endotelial, facilitando a replicação do DENV, induzindo desordens autoimunes. A variação do genoma do DENV evoluiu para maior virulência e o sfRNA induz o aumento da replicação viral. O fenômeno ADE, mediado por FcγR, pode aumentar a replicação viral e desencadear liberação de citocinas e quimiocinas; células T específicas para DENV e ativadas por reação cruzada promovem a liberação de citocinas e quimiocinas (PANG et al, 2017).

## 5 | CONCLUSÃO

Uma das questões mais relevantes acerca da dengue é determinar quais fatores têm influência no desenvolvimento da forma grave da doença. É consenso que a gravidade da dengue está associada à dinâmica de aspectos multifatoriais, como a carga viral e sorotipos, antigenemia da proteína NS1, infecções sequenciais e aspectos genéticos do hospedeiro. Acredita-se que a combinação de biomarcadores, como a resposta imune, marcadores da ativação endotelial, bem como marcadores bioquímicos e genéticos do hospedeiro, será benéfica na detecção precoce da forma grave da dengue, principalmente em função do avanço nas técnicas e equipamentos, que possibilitam a análise de múltiplos biomarcadores a partir, apenas, de pouco volume de soro dos pacientes.

## REFERÊNCIAS

AVIRUTNAN, P.; PUNYADEE, N.; NOISAKRAN, S.; KOMOLTRI, C.; THIEMMECA, S.; AUETHAVORNANAN, K.; et al. **Vascular leakage in severe dengue virus infections: a potential role for the nonstructural viral protein NS1 and complement.** The Journal of Infectious Disease, v.193, n.8, p.1078-88, 2006.

Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v.46, n.3, 2015.

GONÇALVES, B.S.; NOGUEIRA, R.M.R.; BISPO DE FILIPPIS, A.M.; HORTA, M.A.P. **Factors predicting the severity of dengue in patients with warning signs in Rio de Janeiro, Brazil (1986-2012)**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2019a. pii: trz066. doi: 10.1093/trstmh/trz066. [Epub ahead of print]

GONÇALVES, B.S.; HORTA, M.A.P., ACERO, P.H.C.; BOCHNER, R.; QUEIROZ LIMA, M.D.R.; DE ARAÚJO, E.S.; SAMPAIO, S.A.; NOGUEIRA, R.M.R.; DE FILIPPIS, A.M.B. **Dynamics of nonstructural glycoprotein-1 in dengue patients presenting with different clinical manifestations from 1986 to 2012 in Rio de Janeiro, Brazil**. Journal of Medical Virology, v.91, n.4, p. 555-563, 2019b. doi: 10.1002/jmv.25356.

GUBLER, DJ. **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. Clinical Microbiology Reviews, v.11, n.3, p.480-496, 1998.

GUZMÁN, M.G.; HARRIS, E. **Dengue**. Lancet, v.385, n.9966, p.453-465, 2015.

HADINEGORO, S.R. **The revised WHO dengue case classification: does the system need to be modified?** Paediatrics and International Child Health, v.32, Suppl 1, p.33-38, 2012.

HALSTEAD, S.B. **Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology**. Science, v.239, n.4839, p.476-481, 1988.

HALSTEAD, S.B.; NIMMANNITYA, S.; COHEN, S.N. **Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. IV Relation of disease severity to antibody response and virus recovered**. Yale Journal of Biology and Medicine, v.42, n.5, p.311-328, 1970.

HAYES, E.B.; GUBLER, D.J. **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. The Pediatric Infectious Disease Journal, v.11, n.4, p.311-317, 1992.

INOUE, S.; MATSUNO, S.; TSURUKUBO, Y. **“Original antigenic sin” phenomenon in experimental flavivirus infections of guinea pigs: studies by enzyme-linked immunosorbent assay**. Medical Microbiology and Immunology, v.28, n.5, p.569-574, 1984.

JOHN, D.V.; LIN, Y.S.; PERNG, G.C. **Biomarkers of severe dengue disease - a review**. Journal of Biomedical Science, v.22, n.83, 2015.

KALAYANAROOJ, S.; VAUGHN, D.W.; NIMMANNITYA, S.; GREEN, S.; SUNTAYAKORN, S.; KUNENTRASAI, N. et al. **Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness**. The Journal of Infectious Diseases, v.176, n.2, p.313-321, 1997.

KOURI, G.P.; GUZMÁN, M.G.; BRAVO, J.R. **Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 2. An integral analysis**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v.81, n.5, p.821-823, 1987.

LEITMEYER, K.C.; VAUGHN, D.W.; WATTS, D.M.; SALAS, R.; VILLALOBOS, I. et al. **Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis**. Journal of Virology, v.73, n.6, p.4738-4747, 1999.

MARTINA, B.E.; KORAKA, P.; OSTERHAUS, A.D. **Dengue virus pathogenesis: an integrated view**. Clinical Microbiology Reviews, v.22, n.4, p.564-581, 2009.

NIELSEN, D.G. **The relationship of interacting immunological components in dengue pathogenesis**. Virology Journal, v.6, n.211, 2009.

NIMMANNITYA, S. **Clinical spectrum and management of dengue haemorrhagic fever**. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, v.18, n.3, p.392-397, 1987.

- NIMMANNITYA, S. Clinical manifestations of Dengue/Dengue haemorrhagic fever. In: Thongcharoen P, editor. **Monograph on Dengue/Dengue haemorrhagic fever**. India: World Health Organization, p.48-57, 1993.
- PANG, X.; ZHANG, R.; CHENG, G. **Progress towards understanding the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever**. *Virologica Sinica*, v.32, n.1, p.16-22, 2017.
- PERNG, G.C.; CHOKEPHAIBULKIT, K. **Immunologic hypo- or non-responder in natural dengue virus infection**. *Journal of Biomedical Science*, v.20, n.34, 2013.
- RATHAKRISHNAN, A.; WANG, S.M.; HU, Y.; KHAN, A.M.; PONNAMPALAVANAR, S.; LUM, L.C. et al. **Cytokine expression profile of dengue patients at different phases of illness**. *PLoS One*, v.7, n.12, e52215, 2012.
- RECKER, M.; VANNICE, K.; HOMBACH, J.; JIT, M.; SIMMONS, C.P. **Assessing dengue vaccination impact: Model challenges and future directions**. *Vaccine*, v.34, n.38, p.:4461-4465, 2016.
- RICO-HESSE, R.; HARRISON, L.M.; SALAS, R.A.; TOVAR, D.; NISALAK, A.; RAMOS, C. et al. **Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas**. *Virology*, v.230, n.2, p.244-251, 1997.
- ROTHMAN, A.L.; ENNIS, F.A. **Immunopathogenesis of Dengue hemorrhagic fever**. *Virology*, v.257, n.1, p.1-6, 1999.
- SRIKIATKHACHORN, A.; GREEN, S. **Markers of dengue disease severity**. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, v.338, p.67-82, 2010.
- SRIKIATKHACHORN, A.; ROTHMAN, A.L.; GIBBONS, R.V.; SITTISOMBUT, N.; MALASIT, P.; ENNIS, F.A. et al. **Dengue—how best to classify it**. *Clinical Infectious Diseases*, v.53, n.6, p.563-567, 2011.
- STEPHENSON, J.R. **Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design**. *Bulletin of the World Health Organization*, v.83, n.4, p.308-314, 2005.
- THEIN, S.; AUNG, M.M.; SHWE, T.N.; AYE, M.; ZAW, A.; AYE, K. et al. **Risk factors in dengue shock syndrome**. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.56, n.5, p.566-572, 1997.
- TSAI, C.Y.; LEE, I.K.; LEE, C.H.; YANG, K.D.; LIU, J.W. **Comparisons of dengue illness classified based on the 1997 and 2009 World Health Organization dengue classification schemes**. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v.46, n.4, p.271-281, 2013.
- WHO/TDR. Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases. **Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control**. New Edition. Geneva: World Health Organization, 2009.

## A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO APSCERR COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLANTE DE ÓRGÃO HEPÁTICO

Data de aceite: 19/11/2018

### Antonio Henrique Dianin

Unicamp, Faculdade de Ciências Médicas  
Campinas – São Paulo

### Rodolfo dos Reis Tártaro

Unicamp, Faculdade de Ciências Médicas  
Campinas – São Paulo

### Gracinda de Lourdes Jorge

Unicamp, Faculdade de Ciências Médicas  
Campinas – São Paulo

### Aurea Maria Oliveira da Silva

Unicamp, Faculdade de Ciências Médicas  
Campinas – São Paulo

### Elaine Cristina de Ataíde

Unicamp, Faculdade de Ciências Médicas  
Campinas – São Paulo

### Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin

Unicamp, Faculdade de Ciências Médicas  
Campinas – São Paulo

**RESUMO: Introdução:** Em 2016 o Brasil foi o segundo país do mundo em número absoluto de transplantes, ainda assim a sua lista de espera tem crescido a cada ano. Não há na literatura um bom método de avaliação de imagem para aumentar a utilização de enxertos hepáticos captados, de forma a permitir a atuação proativa frente ao planejamento e

execução do procedimento, visando o aumento da efetivação destas doações. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e descrição do procedimento de utilização de um equipamento e sistema de comunicação cirúrgico utilizando o robô R1T1. **Método:** O equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1 – APSCERR, foi criado para fornecer uma imagem clara e verdadeira durante as diversas variações de luminosidade, permitindo que aspectos não identificados claramente pelos olhos humanos possam ser visivelmente reconhecidos. Uma análise qualitativa foi realizada durante experimentos em ratos Wistar, observando-se o fígado destes animais com o equipamento. **Resultado:** Como resultado desta pesquisa temos o desenvolvimento e comprovação da efetividade de utilização do equipamento APSCERR, sendo também desenvolvido o software de comunicação entre o equipamento e o robô R1T1. Foi registrado uma patente de invenção referente ao desenvolvimento do APSCERR e uma patente de seu processo de utilização se encontra em estado atual de sigilo. **Conclusão:** Conseguimos construir, patentear e provar a efetividade do equipamento para a área médica que de uma maneira geral apresentou maior eficiência e melhores

parâmetros para sua utilização no campo cirúrgico quando comparado com métodos tradicionais utilizados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Transplante de Órgãos; Robô R1T1; Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação.

## THE USE OF R1T1 ROBOT AND ASPCERR EQUIPMENT AS AID IN THE PREOPERATIVE PROCESS OF HEPATIC TRANSPLANT

**ABSTRACT: Introduction:** In 2016, Brazil was the second country in the world in absolute number of transplants, yet its waiting list has grown every year. There is not a good image evaluation method in the literature to increase the use of captured hepatic grafts, in order to allow the proactive action in the planning and execution of the procedure, aiming at increasing the effectiveness of these donations. **Objective:** The aim of this work was to develop and describe the procedure for using a surgical communication equipment and system connected to the R1T1 robot. **Method:** The automatic portable surgical communication equipment with the R1T1 robot – APSCERR, was created to provide a true, clear and bright picture during the various brightness variations, allowing aspects not clearly identified by human eyes to be visibly recognized. A qualitative analysis was carried out during experiments on Wistar rats, observing the liver of these animals with the equipment. **Result:** As a result of this research we have the development and proof of the effectiveness of the use of APSCERR equipment, and also the developed of the communication software between the equipment and the robot R1T1. A patent for the development of APSCERR has been registered and a patent for its use is currently in a state of secrecy. **Conclusion:** We managed to build, patent and prove the effectiveness the equipment for the medical area that generally showed greater efficiency and better parameters for its use in the surgical field when compared to traditional methods used. **KEYWORDS:** Organ Transplant; R1T1 Robot; Automatic Portable Surgical Communication Equipment.

### 1 | INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos – ABTO, em 2016, o Brasil foi o segundo país do mundo em número absoluto de transplantes, ainda assim a lista de espera para os mesmos tem crescido a cada ano (1).

Desde o início da história dos transplantes, inúmeras dificuldades são enfrentadas para efetiva implantação desta prática terapêutica, essencialmente no que diz respeito ao transplante de órgãos sólidos e seu ensinamento e treinamento.

As dificuldades técnicas da captação; o tempo de isquemia, ou seja, o tempo em que o órgão se mantém viável a partir da interrupção da circulação sanguínea

na retirada do órgão e seu transplante; a implantação; e a melhor compreensão quanto à conservação do órgão doado são algumas destas dificuldades que vêm sendo superadas com o auxílio de novas tecnologias e melhores práticas. Hoje temos os protocolos de imunossupressão; drogas imunossupressoras com menos efeitos adversos; novas técnicas cirúrgicas implementadas; e mais recentemente a tecnologia robótica vem sendo empregada de forma crescente nos procedimentos médicos, de maneira que muitos passos foram dados para o sucesso do transplante como forma de tratamento (2).

O tempo de retirada e transplante do órgão influencia diretamente nos resultados do procedimento cirúrgico. Em alguns casos, como no transplante de córnea, desde que seja mantido em condições adequadas, o transplante pode ser feito até 6 dias depois do atestado de óbito. Porém, em outros casos, como na retirada de um coração o procedimento deve ser feito em questão de poucas horas (3).

De acordo com o estudo desenvolvido por Stahl et al, o tempo de isquemia fria do órgão a ser transplantado pode ter impacto direto na sobrevivência do receptor e varia de acordo com o órgão transplantado (4-5).

Portanto, uma grande importância deste estudo, é atentar para a premissa básica de que tempo é um fato primordial e de importante restrição, para um transplante de órgãos bem-sucedido. Desde quando o processo de doação é iniciado, todas as atividades, desde a retirada do órgão ao até o seu implante, devem ser sincronizadas e conduzidas com o menor período de tempo possível (6).

O fato é que apesar de todo esse esforço científico, ainda hoje, assim como no princípio, enfrenta-se a questão da obtenção de órgãos. Questão está envolta por múltiplos outros complicadores.

Mesmo com o aumento de equipes médicas qualificadas e de hospitais adequadamente equipados, ainda é importante lembrar a problemática da deficiência na estrutura atual de captação e distribuição de órgãos, apontada por diversos autores (6-7).

Assim, muitos outros passos ainda são necessários para vencer a ainda atual desproporção entre o número de pacientes em lista, versus o número de transplantes efetivos, sendo o processo de doação uma etapa essencial.

Finalmente, os conceitos ligados a esta pesquisa têm potencial para representar um importante papel na melhoria de desempenho das atividades na área de saúde e existem várias possibilidades de sua aplicação, não somente em termos de simplificação e agilidade de processos, mas também no aumento da satisfação dos envolvidos, inclusive com a perspectiva de redução de custos de procedimentos.

## 1.1 O Uso do Aparelho Celular em Cirurgias

Procuramos na literatura, e em bancos de dados como o PubMed e Google Acadêmico, e não encontramos referências que demonstrem comparação entre imagens do uso do aparelho celular como auxiliar em cirurgias de transplante hepático com robôs, usando os termos de busca 'liver macroscopic analysis using transmission data', 'liver macroscopic analysis using robot', 'liver macroscopic analysis with cellphones', etc, em artigos em inglês e português.

Segundo o ex-presidente do Conselho Regional de Medicina do Estado do Paraná - CRM-PR, Alexandre Gustavo Bley, o uso de máquinas fotográficas ou aparelhos celulares é corriqueiro em procedimentos cirúrgicos, porém a entidade destaca que até mesmo com a autorização do paciente e na condição de ciência, a identidade do mesmo deve ser preservada, não bastando apenas suprimir o rosto, já que existem outras formas de se identificar uma pessoa. Ainda o órgão orienta que não seja realizada a divulgação e transmissão de imagens através de redes sociais (8-9).

Apesar do aparelho celular poder ser empregado para se verificar a macroscopia do órgão a ser extraído e sua possível utilização, observa-se dificuldades no emprego do mesmo em aspectos quanto a coloração, luminosidade, tempo de bateria, capacidade de armazenamento de vídeos, largura de banda de internet, facilidade de manuseio e outras propriedades para a obtenção de uma boa imagem que seja de confiança e em tempo real (10-11).

Como fatores adversos a luminosidade e coloração pode-se observar a comparação entre as imagens abaixo onde o mesmo fígado foi fotografado utilizando o mesmo aparelho celular, mas em situações diferentes de luz, o que poderia levar a uma interpretação equivocada sobre seus aspectos macroscópicos do órgão.

Ainda aspectos como segurança dos dados transmitidos em redes abertas através da internet devem ser considerados ao se utilizar um aparelho celular pessoal para se fotografar e transmitir imagens de pacientes, sendo a criptografia dos dados altamente recomendada quando se trata da confidencialidade e integridade dos mesmos (12).

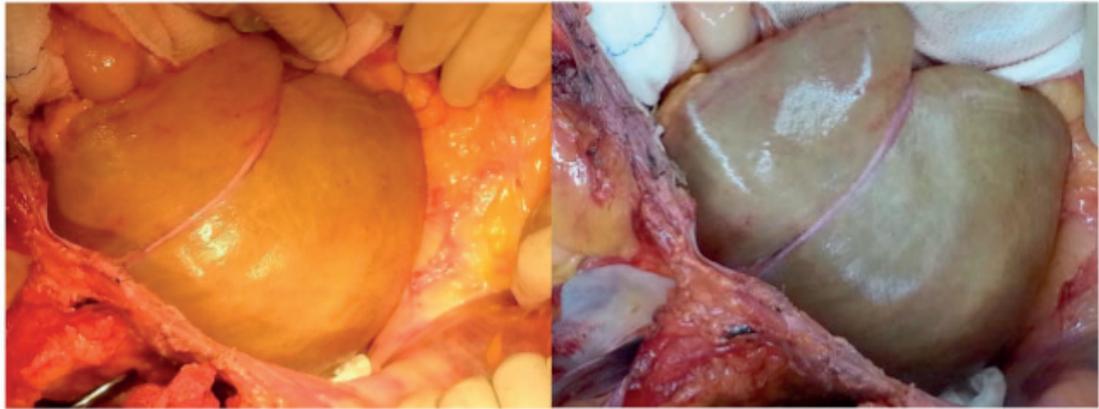


Figura 1: Comparação entre imagens de um mesmo fígado fotografado utilizando o mesmo aparelho celular, mas em situações diferentes de luz. Fonte: Arquivos pessoais da Dr. Ilka de Fátima Santana Ferreira Boim.

Por sua vez, características tecnológicas como a capacidade de múltiplas conexões, compressão de dados, controle remoto de imagem, controle sonoro remoto, controle remoto do sistema e preocupações quanto ao controle de infecção hospitalar são necessidades desejáveis ausentes no aparelho celular (13).

Esta foi uma primeira ideia para utilização do robô R1T1 em captação de órgãos para viabilização e efetivação da mesma, mas seu uso acoplado ao aparelho celular não satisfaz as necessidades requeridas pelo procedimento.

## 1.2 O Robô R1T1

De acordo com a Project Company, empresa brasileira desenvolvedora do robô R1T1, o mesmo vem sendo utilizado com sucesso nas mais variadas atividades relacionadas com o setor da saúde, dentre os principais benefícios previstos de sua implementação podemos citar a modernização dos processos, a agilidade e praticidade de sua utilização, a diminuição do tempo total das cirurgias, a maior precisão e credibilidade durante a tomada de decisões, a melhora na qualidade dos serviços prestados e a maior confiabilidade e ausência de falhas em seus sistemas quando comparados a sistemas tradicionais de computação (14).

## 1.3 Justificativa

Com base nesta problemática busca-se inserir o robô R1T1 para possibilitar a melhoria da comunicação em tempo real entre as equipes envolvidas no processo de captação e implantação de órgãos, em especial no processo pré-operatório do transplante de órgão. Com a implementação desta nova tecnologia, também se almeja uma melhora no grau de eficácia e efetividade para o processo como um todo.



Figura 2: Foto do Robô R1T1. Fonte: Site da empresa Project Company (14).

Como não foi encontrado um aparelho capaz de sanar todas as necessidades específicas do processo de transplante de órgão, resolveu-se criar um equipamento médico de comunicação portátil e automático que atendesse tais necessidades de aproximação e análise remota dos órgãos entre equipes cirúrgicas distantes geograficamente.

## 2 | OBJETIVO

Como objetivo geral desta pesquisa buscou-se desenvolver e descrever o processo de utilização da invenção de um equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1, bem como demonstrar sua capacidade frente a área médica de transplante de órgãos.

Como objetivo específico buscou-se comparar a utilização desta nova tecnologia frente ao uso de um aparelho celular.

## 3 | MÉTODO

### 3.1 Local da Pesquisa

O estudo foi realizado no Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (HC – FCM - Unicamp), no Departamento de Cirurgia – Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental – Laboratório de Hepatologia Cirúrgica e Transplante Hepático.

### 3.2 Comitê de Ética

O presente trabalho também está inserido em um projeto de pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Cirurgia da FCM - UNICAMP intitulado “A Utilização do Robô R1T1 como Auxiliar no Processo Pré-Operatório do Transplante de Órgão Hepático”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa nº 47966515.0.0000.5404.

### 3.3 Descrição do Processo de Desenvolvimento

O texto descritivo que delinea o procedimento de criação do APSCERR está transcrito em sua íntegra conforme registrado junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual – INPI sob o número BR 10 2017 008807 3.

### 3.4 Descrição do Processo de Utilização

O texto descritivo que delinea o procedimento de utilização desta nova tecnologia está transcrito em sua íntegra e encontra-se atualmente em estado de sigilo frente ao registro de uma nova patente junto ao INPI.

### 3.5 Análise do Equipamento

O equipamento criado foi testado em uma parte de outra pesquisa que está sendo desenvolvida, intitulada “A utilização do robô R1T1 para detecção do metabolismo de indocianina no órgão hepático de ratos Wistar”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP nº 4303-1).

Dez ratos da raça Wistar, foram anestesiados com tiopental sódico sendo submetidos a laparotomia com incisão em U para observação do fígado do animal usando-se os diferentes meios de avaliação macroscópica (forma e cor). Após esta avaliação seguiu-se o procedimento padrão estabelecido para a pesquisa descrita acima (15).

Para se testar os quesitos referentes a imagem final obtida comparou-se o dispositivo APSCERR conectado ao robô R1T1 com a imagem de um celular Microsoft®, modelo 950XL, com 8.0MP de resolução de câmera, através dos parâmetros descritos abaixo.

O parâmetro nitidez foi avaliado pelo pesquisador e outros dois observadores utilizando-se uma escala de valores de 0 a 5, onde 0 representou o menor valor e cinco o maior valor constatado de nitidez. Sendo que as imagens foram obtidas frontalmente a cerca de 50cm de distância do objeto a ser estudado;

A facilidade de uso de autofocus e regulagem de luminosidade foi avaliada como sendo automaticamente contínua ou de modo manual;

O parâmetro quantidade de LEDs para iluminação foi estabelecido pelo número

de LEDs disponíveis em cada aparelho;

A autonomia da bateria foi medida em horas de transmissão de vídeo contínuo;

A capacidade da internet foi medida em gigas de transmissão;

A capacidade de armazenamento foi medida em *terabytes*;

As especificações técnicas: criptografia, capacidade de múltiplas conexões, compressão de dados, controle remoto da imagem, controle sonoro remoto, controle remoto do sistema, revestimento antibactericida e detecção do metabolismo de indocianina, foram descritas como presentes ou ausentes.

### 3.6 Fomento

Os recursos provenientes para realização desta pesquisa foram resultados da parceria público-privado entra a empresa de tecnologia e inovação Project Company e a Unicamp no valor estimado de 550 mil reais.

Não foi utilizado nenhuma agencia de fomento como forma de angariação de recursos para esta pesquisa.

## 4 | RESULTADO

Como principal resultado deste trabalho obteve-se o depósito da patente de invenção junto ao INPI sob o número BR 10 2017 008807 3, e a publicação da mesma na revista da propriedade industrial N° 2434 de 29/08/2017 p477.

Ainda, como outros resultados desta pesquisa podemos apontar as seguintes realizações:

Desenvolvimento do equipamento APSCERR.

Desenvolvimento do sistema que permite a comunicação entre o APSCERR e o robô R1T1.

Geração da patente descritiva do processo de utilização desta nova tecnologia em estado atual de sigilo.

Por fim, uma avaliação preliminar qualitativa, conforme método descrito neste trabalho, do equipamento APSCERR foi realizada apresentando os seguintes resultados quando comparado com o aparelho celular Microsoft®, modelo 950XL, conforme pode ser observado na tabela 1.

Referente ao parâmetro nitidez constatado nos aspectos macroscópicos dos animais observados, não houve diferença estatística entre as imagens obtidas quanto ao quesito nitidez ( $p = 0.968$ ).

As características tecnológicas de criptografia de dados, capacidade de múltiplas conexões, compressão de dados, controle remoto de imagem, controle sonoro remoto, controle remoto do sistema, revestimento antibactericida e capacidade de detecção do metabolismo de indocianina estiveram presentes no

APSCERR e ausentes no aparelho celular, como descrito na tabela 1.

Pode se observar que a autonomia da bateria do APSCERR foi cinco vezes maior, a capacidade de armazenamento foi cerca de 17 vezes maior e a quantidade de LEDs foi 11 vezes maior.

A facilidade de manuseio do controle de autofoco e de controle de luminosidade foram automáticos no APSCERR e manual no aparelho celular.

<b>Parâmetros Tecnológicos</b>	<b>APSCERR</b>	<b>Aparelho Celular</b>
Nitidez (0-5)	5	5
Auto <i>focus</i>	Automático	Manual
Regulagem de luminosidade	Automático	Manual
Quantidade de LEDs de iluminação	11	1
Autonomia da bateria (horas)	até 10	<2
Capacidade de armazenamento	1 <i>terabyte</i>	0,06 <i>terabyte</i>
Criptografia de dados	Presente	Ausente
Capacidade de múltiplas conexões	Presente	Ausente
Compressão de dados	Presente	Ausente
Controle remoto da imagem	Presente	Ausente
Controle sonoro remoto	Presente	Ausente
Controle remoto do sistema	Presente	Ausente
Revestimento antibactericida	Presente	Ausente
Capacidade de detecção do metabolismo da indocianina	Presente	Ausente

Tabela 1: Dados comparativos entre o equipamento APSCERR conectado ao robô R1T1 e o aparelho celular.

Na figura 3, pode-se observar uma imagem obtida pelo aparelho APSCERR em comparação com uma imagem obtida com o aparelho celular nas circunstâncias mais propícias para a realização da mesma. Também se apresenta uma imagem da isquemia parcial do fígado onde pode ser observado através do APSCERR a presença e ausência da indocianina verde nos lóbulos do fígado.

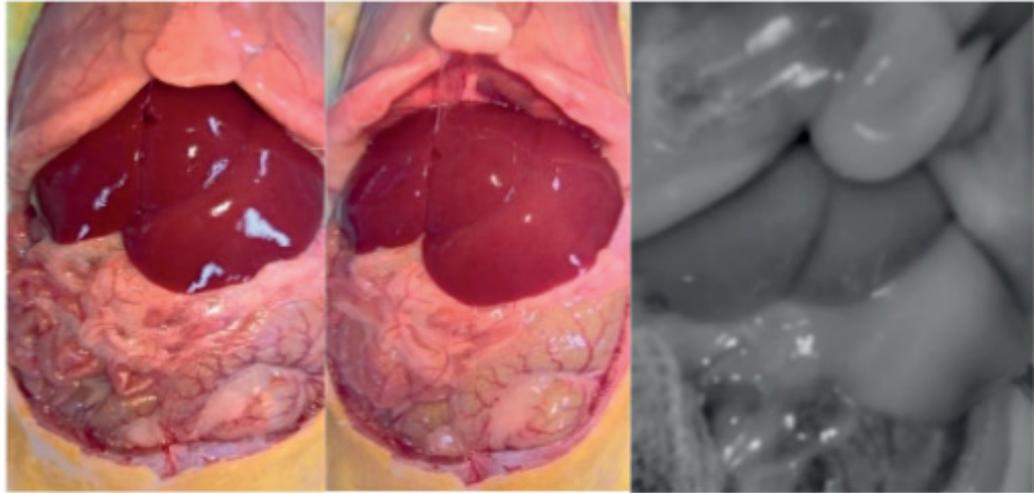


Figura 3: Em sequência - Imagem captada pelo aparelho celular x imagem captada pelo APSCERR x imagem da isquemia parcial do fígado captada pelo APSCERR demonstrando o contraste entre os lóbulos (esquerda) com absorção da indocianina e o lóbulo (direita) sem absorção da indocianina.

Ainda, foi também desenvolvido uma escala padrão de cores, denominada 'Escala Dianin Boin', para análise do nível de reperfusão/metabolismo do fígado quando observado com o equipamento ASPCERR na presença do marcador indocianina verde, como pode ser observado na Figura 4.



Figura 4: Escala de cores Dianin Boin, para análise do nível de reperfusão e metabolismo do fígado quando observado com o ASPCERR na presença do marcador indocianina verde.

## 5 | DISCUSSÃO

Um bom gerenciamento das atividades de comunicação nos transplantes de órgãos é importante para elevar a qualidade dos procedimentos e aumentar a eficiência do processo como um todo (16).

A aplicação de processos tecnológicos à medicina vem de longa data histórica, desde o trabalho clássico de Einthoven, o qual demonstrou a possibilidade de transmissão de dados de exames de eletrocardiogramas através de linhas telefônicas, passando pela época de transmissão por rádio e pela televisão, até alcançar os dias atuais, utilizando-se da transmissão por meio da internet (17-18).

O desenvolvimento do APSCERR como resultado desta pesquisa possibilita a comunicação em tempo real, através do sistema integrado com o robô R1T1, entre todos os envolvidos no processo de transplante de órgãos, principalmente entre a equipe de extração e recepção do órgão hepático, que poderá acompanhar a cirurgia remotamente e participar ativamente durante a mesma, uma vez que a gestão de todo o fluxo de informações entre as equipes encontra-se concentrado no robô R1T1 (16, 19).

Em 2012, foi desenvolvido uma ferramenta computacional distribuída para o gerenciamento e a transmissão de fluxos de vídeo. O sistema foi utilizado para a transmissão de cirurgias aplicando redes de alto desempenho. Com o desenvolvimento de trabalhos na área de telemedicina, subsidiado pelo avanço das técnicas computacionais e de telecomunicações, a transmissão de imagens e de vídeos se tornou possível e consiste em um dos principais requisitos para a realização de exames e de diagnósticos à distância. A partir desse contexto, a telemedicina passou por diferentes propósitos atrelados à medicina, tais como: telecardiograma, telerradiologia, telecirurgia, telemonitoramento e telediagnóstico (17, 20-21).

Destaca-se também a possibilidade de múltiplas conexões conjuntas provenientes das demais entidades interessadas, como por exemplo a central de transplantes, a organização de procura de órgãos, os residentes que gostariam de acompanhar a cirurgia, ou até mesmo os alunos da universidade, que se assim autorizados, poderiam fazer uso das gravações para fins didáticos. Assim, tanto a equipe de preparação do paciente a ser transplantado, quanto todos os demais interessados podem ter acesso a informações cruciais e em tempo real relacionadas ao procedimento.

Por sua vez, o recurso disponível pode ser fundamental não apenas para a comunicação e tomada de decisão, mas também para a avaliação do órgão remotamente, observando parâmetros macroscópicos, como por exemplo o grau de esteatose ou inferindo medidas como tamanho e peso, ou o grau de reperfusão do órgão indicado pela detecção do metabolismo da indocianina verde ou ainda na correta determinação da existência de compatibilidade entre o receptor e o doador.

Sobre os parâmetros observados quando comparados o equipamento APSCERR com o aparelho celular pode-se tecer os seguintes comentários.

Tanto a qualidade de imagem apresentada pelo APSCERR, quanto a do

aparelho celular demonstraram-se satisfatórias para análise remota no processo intraoperatório, visto que os dois dispositivos possuem 8.0MP (megapixel) de resolução integrada.

Enquanto o APSCERR apresentou um *focus* e regulagem automáticos, o celular apenas apresentou estas funções de maneira manual. O que dificultaria em muito a transmissão contínua com qualidade destas imagens. Ainda o APSCERR apresenta capacidade de banda de internet adequada já integrada em seu sistema, enquanto que para a utilização do mesmo em um celular de algum membro da equipe médica seria necessário a viabilidade de gigas de transmissão de dados, o que embora não seja impossível de se conseguir, não contempla a realidade dos planos de celulares atuais. Assim, a falta de banda de internet poderia afetar a conexão e taxa de transmissão dos vídeos (10-11).

Os vídeos com taxas inferiores a 10 QPS causam sensação de descontinuidade, pois as falhas de configuração da imagem são perceptíveis à visão humana. Sob esse aspecto, Apteker et al demonstraram que os usuários possuem uma percepção diferente, dependendo do conteúdo, quanto à taxa de transmissão de QPS. Resultados similares foram encontrados por Steinmetz et al, por meio de série de experimentos a respeito da percepção humana. (22-23)

O APSCERR ainda apresenta uma autonomia de mais de dez horas de funcionamento contínuo de transmissão de vídeo, sendo possível desta forma acompanhar todo o trajeto, desde o momento de saída até o retorno da equipe médica em campo. Por outro lado, um celular não suportaria tais transmissões continuamente por mais de duas horas. Por sua vez, o equipamento desenvolvido ainda demonstra nítidas vantagens de especificações técnicas não disponíveis quando comparado com um celular comum, entre elas podemos citar: sua criptografia de dados entre as conexões; sua capacidade de armazenamento elevada na casa de *terabytes*; sua possibilidade de múltiplas conexões conjuntas; e seu sistema de compressão de dados por hardware em software em tempo real (12-13, 24).

Nesse contexto, Eysenbach et al descreve o avanço computacional na capacidade de armazenamento e de processamento, no aprimoramento dos métodos de segurança nas aplicações computacionais, no desenvolvimento de novas técnicas de comunicação de dados, na popularização da internet e dos sistemas direcionados para a web, tem permitido, de modo sinérgico, a realização de trabalhos multidisciplinares aplicados à área de saúde (25-26).

## 5.1 Perspectivas

Assim, acredita-se que a melhoria de comunicação estabelecida entre as equipes auxilie na tomada de decisões mais precisas e com maior confiança, o que pode determinar um transplante bem-sucedido, podendo vir a reduzir o tempo total

necessário para a execução do procedimento como um todo, podendo até mesmo ser o fator determinante entre a vida ou a morte de um paciente.

Visualiza-se que a inserção desta nova tecnologia, juntamente com o robô R1T1, tem o potencial estratégico de melhoria da qualidade da assistência tanto ao paciente transplantado, quanto a todas as equipes envolvidas de alguma forma neste processo.

Ainda, a utilização de tecnologias disruptivas como esta, tem se demonstrado um forte fator de motivação, capaz de mexer com o interesse e as expectativas dos profissionais envolvidos no processo, realizando um papel fundamental na definição do sucesso da operação, da comunicação e do uso das melhores práticas e procedimentos (27-28).

Por fim, vislumbra-se que com a implementação efetiva desta nova tecnologia pode-se obter melhorias de parâmetros tanto qualitativos quanto quantitativos, em fatores como por exemplo: Precisão da previsão para início do procedimento; Agilidade do processo; Efetividade das decisões; Qualidade do serviço prestado; Reduções de custo; Acuracidade e precisão da realização do trabalho; Tranquilidade da equipe em realizar estes procedimentos; Tempo total de todo processo cirúrgico; Tempo de espera e preparo do paciente no centro cirúrgico; Precisão e facilidade de comunicação em tempo real entre as equipes; Melhoria na satisfação das necessidades apresentadas; Satisfação dos envolvidos na utilização desta nova tecnologia.

Em suma, o desenvolvimento do APSCERR e sua utilização junto ao robô R1T1 pode vir a ser de grande valia para a área médica, sendo que o emprego desta nova tecnologia no complexo processo de trabalho da captação e transplante de órgãos pode ajudar a reduzir significativamente o disparate entre doadores e receptores.

## 6 | CONCLUSÃO

Foi possível a criação do equipamento de comunicação cirúrgico portátil automático com o robô R1T1 - APSCERR que gerou uma patente de invenção registrada junto ao INPI, bem como a descrição de seu processo de utilização e capacidades.

As funções apresentadas por tal equipamento poderão ser de grande valia para a área médica, senda sua nitidez de imagem semelhante à de um aparelho celular, enquanto que todos seus outros parâmetros se mostraram mais eficazes quando comparados com a utilização do celular, com destaque especial para sua capacidade de detecção do indicador indocianina verde.

## REFERÊNCIAS

1. **Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO**. [Internet]. Disponível em: <http://www.abto.org.br>. Acesso: 22/03/2017.
2. Ratz, W. **Indicadores de Desempenho na Logística do Sistema Nacional de Transplantes: Um estudo de caso**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2016.
3. Info Escola. **Transplante de Córnea** [Internet]. Disponível em: <http://www.infoescola.com/medicina/transplante-de-cornea/>. Acesso: 14/04/2017.
4. Stahl JE, Kreke JE, Malek FAA, Schaefer AJ, Vacanti J. **Consequences of Cold-Ischemia Time on Primary Nonfunction and Patient and Graft Survival in Liver Transplantation: A Meta-Analysis**. PLoS One 2011;3(6): e2468.
5. Portal Brasil. **Tempo de Isquemia de Cada Órgão** [Internet]. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2016/09/tempo-de-isquemia.jpg/view>. Acesso: 11/03/2017.
6. Desschans, B.; Van Gelder, F.; Van Hees, D.; De Roczy, J.; Monbaliu, D.; Aerts, R.; Coosemans, W.; Pirenne, J. **Evolution in Allocation Rules for Renal, Hepatic, Pancreatic and Intestinal Grafts**. Acta Chir Belg, 2012;108:31-34.
7. Genç, R. **The Logistics Management and Coordination in Procurement Phase of Organ Transplantation**. Tohoku J. Exp. Med. (TTJEM), v.216, n. 4, p. 287– 296. Istanbul, 2012.
8. Globo.com (Brasil) (Org.). **Em nota, entidade orienta médicos a não divulgar foto de pacientes**. 2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/distrito-federal/noticia/2014/08/em-nota-entidade-orienta-medicos-nao-divulgar-foto-de-pacientes.html>>. Acesso: 24/05/2017.
9. Globo.com (Brasil) (Org.). **Fotos e vídeos em centro cirúrgico são normais, diz presidente de CRM**. 2012. Disponível em: <<http://g1.globo.com/pr/parana/noticia/2012/05/fotos-e-videos-em-centro-cirurgico-sao-normais-diz-presidente-de-crm.html>>. Acesso: 24/05/2017.
10. Kim WH, Hwang J, Sikora T. **Document Capturing Method with a Camera Using Robust Feature Points Detection**. Dig. Image Comp. Tech. Appl. (DICTA) 2011, pp. 678-682, 2011.
11. Akyildiz IF, Melodia T, Chowdhury KR. **A survey on wireless multimedia sensor networks**. Comput. Netw. 2007; 51(4) 921-960.
12. Li C, Huawei Technologies Co Ltd. **A Method, System and Communication Device for Generating Session Cryptographic**. Patente EP2120389. 2009.
13. Gazula K. **Novel One Integrated System For Real-Time Virtual Face-To-Face Encounters**. Patente US 2011/0106557 A1. 2009.
14. Project Company. **R1T1 Robot** [Internet]. Disponível em: <http://www.projectcompany.org>. Acesso: 26/01/2019.
15. Jorge GL, Tártaro RR, Facin ACC, Pereira RAT, Escanhoela CAF, Boin IFSF. **Late Biliary Obstruction in Wistar Rats After Intermittent Hepatic Pedicle Clamping**. Transplant Proc. 2014;46:1875-8.
16. Chen Z, Yu X, Feng D. **Telemedicine system over the internet**. In Pan-Sydney Workshop on Visualisation (VIP '00). 2000; 2(1):113-118.
17. Einthoven W. **Le télécadiogramme [The telecardiogram]**. Arch. Int. Physiol. 1906; 4(1):132-164.

18. Dwyer TF. **Telepsychiatry: psychiatric consultation by interactive television.** Am. J. Psychiatry. 1973; 130(8):865-869.
19. Craig J, Patterson V. **Introduction to the practice of telemedicine.** Journal of Telemedicine and Telecare. 2005; 1(11):3-9.
20. Panayides A, Pattichis MS, Pattichis CS, Loizou CP, Pantziaris M, Pitsillides A. **Towards Diagnostically Robust Medical Ultrasound Video Streaming using H.264.** Book Biomedical Engineering, 2009; 219-237.
21. Zimeras S, Gortzis LG. **Interactive tele-radiological segmentation systems for treatment and diagnosis.** Proceedings of the International Journal Telemedicine Applied. 2012; 2012(4):713-739.
22. Apteker RT, Fisher JA, Kisimov VS, Neishlos H. **Video acceptability and frame rate.** MultiMedia IEEE. 1995; 2(3): 32-40.
23. Steinmetz R. **Human perception of jitter and media synchronization.** In: Selected Areas in Communications. Proceedings of the IEEE Journal on. 1996; 14(1):61-72.
24. Ou YF, Liu T, Zhao Z, Ma Z, Wang Y. **Modeling the impact of frame rate on perceptual quality of video.** In: Image Processing (ICIP 2008). Proceedings of the 15th IEEE International Conference on. 2008; 12(15):689-692.
25. Eysenbach G. **Medicine 2.0: Social Networking, Collaboration, Participation, Apomediation, and Openness.** J Med Internet Res. 2008; 10(3):1-22.
26. Sanjay P. A., Sindhu M., Jesus Z., **A Survey of the State of Cloud Computing in Healthcare, Networks and Communications Technologies,** 2012; 1(2):12-19.
27. Templeton AW, Dwyer SJ 3rd, Johnson JA, Anderson WH, Hensley KS, Rosenthal SJ, Lee KR, DF, Batnitzky S, Price HI. **An on-line digital image management system.** Radiology. 1984;152(2):321-5.
28. Maani R, Camorlinga S, Eskicioglu R. **A Remote Real-time PACS-based Platform for Medical Imaging Telemedicine.** Proceedings of SPIE 7264. 2009; 7264(1):1-12.

## VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DO AFASTADOR FLEXÍVEL DE FÍGADO NO BYPASS GÁSTRICO ROBÓTICO

Data de aceite: 19/11/2018

### **Raquel Mourisca Rabelo**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Gilberto Daniel Travedo Ramos**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Clara Taís Tomaz de Oliveira**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Miriana Sousa Carneiro**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Bruna Sousa Ribeiro**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Maria Vitoria Evangelista Benevides Cavalcante**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Gilberto Esteban Travedo Cervantes**

Médico

**Introdução:** Para realização do bypass gástrico ou sleeve, é necessária uma boa visualização da junção esofagogástrica. No nosso meio, o mais usado é uma pinça laparoscópica com dentes que fica presa no pilar diafragmático. Esse tipo de afastador é rígido e pode causar

danos no pilar diafragmático e no fígado, principalmente quando esse tem uma esteatose severa, comum nos obesos. Tornou-se uma opção eficiente, barata, pouco traumática e facilmente reproduzível de um dispositivo para afastar o fígado e permitir a realização de uma cirurgia segura. Esse afastador é minimamente traumático, eficiente, seguro, barato e não necessita de incisão para sua colocação. Ele pode ser usado em fígados de qualquer tamanho, pois possui dois fios de tal forma que quando o lobo hepático esquerdo é grande, pode-se exteriorizar uma parte do fio pelo hipocôndrio esquerdo, criando um formato de V. Outra opção em casos de lobo hepático esquerdo grande é usar a agulha do fio de seda e transfixar a parede abdominal anterior na região do hipocôndrio esquerdo alto e retirar o fio pelo rebordo costal direito, juntamente com o outro “braço” do fio. **Objetivo:** Evidenciar as vantagens da utilização do afastador flexível de fígado em cirurgia de by-pass gástrico robótico. **Métodos:** O afastador flexível de fígado é confeccionado facilmente pela instrumentadora, usando sonda de Nelaton N°10 e um fio de seda agulhado 2.0. Ele é colocado através do trocater de 10 ou 12 mm e fixado ao pilar diafragmático com uma passagem da agulha. Depois a agulha é retirada, e o fio de seda é

tracionado e exteriorizado por uma agulha tipo Thomasom, colocada abaixo do rebordo costal direito. **Resultados:** Diversos tipos de afastadores de fígado são usados para realizar o bypass gástrico laparoscópico. Os afastadores usados com “dentes” têm desvantagens: causam maior dano ao tecido hepático, devido à compressão exercida no fígado, necessitam de uma incisão para seu posicionamento, o uso da pinça com dentes pode causar danos na região que será colocada. Já o afastador flexível é minimamente traumático, eficiente, seguro, barato e não necessita de incisão para sua colocação, podendo ser usado em fígados de qualquer tamanho. **Conclusão:** O afastador de fígado flexível é eficiente e seguro em cirurgias de bypass gástrico robótico.

## REFERÊNCIAS

SINGLE, A. O. et al. TÉCNICA MINIMIZAÇÃO DE PORTAIS COM MINIPORTES E AFASTADOR FLEXÍVEL DE FÍGADO: ALTERNATIVA ERGONÔMICA E ESTÉTICA AO SINGLE PORT EM BYPASS GÁSTRICO LAPAROSCÓPICO. v. 27, n. Suplemento 1, p. 77–79, 2014.

## ESTUDO PROSPECTIVO DE EVENTOS TROMBOEMBÓLICOS APÓS REOPERAÇÕES DE ALTA COMPLEXIDADE EM ESTIMULAÇÃO CARDÍACA ARTIFICIAL DEFINITIVA

Data de aceite: 19/11/2018

### Caio Marcos de Moraes Albertini

Instituto do Coração (InCor) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

### Katia Regina da Silva

Instituto do Coração (InCor) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

### Marcia Fernandes Lima

Instituto do Coração (InCor) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

### Joaquim Maurício da Motta Leal Filho

Instituto do Coração (InCor) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

### Martino Martinelli Filho

Instituto do Coração (InCor) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

### Roberto Costa

Instituto do Coração (InCor) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

### PREDICTORS OF UPPER EXTREMITY DEEP VENOUS THROMBOSIS AND PULMONARY EMBOLISM AFTER TRANSVENOUS

### LEAD REPLACEMENT OR UPGRADE PROCEDURES

**ABSTRACT: Background:** Venous obstructions are frequent in patients with transvenous leads although related clinical findings are rarely reported. After lead replacement or upgrade these lesions are even more frequent, but there is still no evidence to support this observation.

**Objective:** To investigate the incidence and possible risk factors for upper extremity deep venous thrombosis (UEDVT) and pulmonary embolism (PE) after lead replacement or upgrade procedures. **Methods:** Prospective cohort carried out between April 2013 and July 2016. Preoperative evaluation included venous ultrasound and pulmonary angiotomography. Diagnostic exams were repeated postoperatively to detect the study outcomes. Student's t test, Chi-square or Fisher's Exact test were used in the univariate analysis. Multivariate logistic regression models were used to identify prognostic factors. **Results:** Among the 84 patients included, there was a balance between gender and mean age was  $59.3 \pm 15.2$  years. Lead malfunctioning (75.0%) was the main surgical procedure indication. Lead removal was performed in 52.4% of the cases. The rate of postoperative UEDVT and PE was 28.6%

and 7.1%, respectively. Independent prognostic factors for UEDVT were severe collateral circulation in the preoperative venography (OR= 4.7 [95% CI= 1.1-19.8], P= 0.037) and lead extraction (OR= 27.4 [95% CI 5.8-128.8], P<0.0001). **Conclusion:** Reoperations involving previously transvenous implanted leads present high rates of thromboembolic complications. Transvenous lead extraction had a significant impact on the development of UEDVT. These results show the need of further studies to evaluate the role of preventive strategies for this subgroup of patients.

**KEYWORDS:** cardiac pacing, artificial; postoperative complications; venous thrombosis; pulmonary embolism;

## INTRODUÇÃO

O implante transvenoso de cabos-eletrodos de dispositivos cardíacos eletrônicos implantáveis (DCEI) está associado a altas taxas de lesões venosas e fatores de risco para essa ocorrência já foram identificados.<sup>1-7</sup> Embora existam evidências de que o uso de warfarina nos seis primeiros meses após o implante inicial desses dispositivos reduza a taxa de ocorrência dessas obstruções,<sup>8</sup> em função da baixa incidência de eventos clínicos importantes, como a trombose venosa profunda do membro superior (TVPMSS) ipsilateral ao implante, a síndrome da veia cava superior ou a tromboembolia pulmonar (TEP), a prevenção dessas obstruções não tem sido rotineira.

Em reoperações com manipulação intravascular de cabos-eletrodos, especialmente após extração de eletrodos, a taxa de ocorrência da TVPMSS ipsilateral ao implante parece ser maior do que após implantes iniciais<sup>7,9-11</sup> e já existem relatos na literatura do uso profilático de anticoagulantes após esses procedimentos, a despeito da falta de evidências robustas que justifiquem essa prática.<sup>12,13</sup>

Nossa hipótese é a de que eventos tromboembólicos importantes, com ou sem repercussão clínica, sejam frequentes após procedimentos de troca ou implante de novos eletrodos, e que seja possível detectar fatores de risco que norteiem estratégias preventivas. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar, prospectivamente, a incidência da TVPMSS ipsilateral ao implante e da TEP em indivíduos portadores de DCEI que foram reoperados para implante de novos cabos-eletrodos transvenosos e identificar fatores prognósticos para a ocorrência desses dois eventos.

## MÉTODOS

### Desenho do Estudo

Estudo prospectivo realizado em um centro de referência cardiológico de alta complexidade no período de abril de 2013 a julho de 2016. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

A Figura 1 mostra as principais etapas do estudo e a composição da população estudada. As informações coletadas foram processadas no Research Electronic Data Capture (REDCap)<sup>14</sup> que está hospedado no servidor do HCFMUSP.

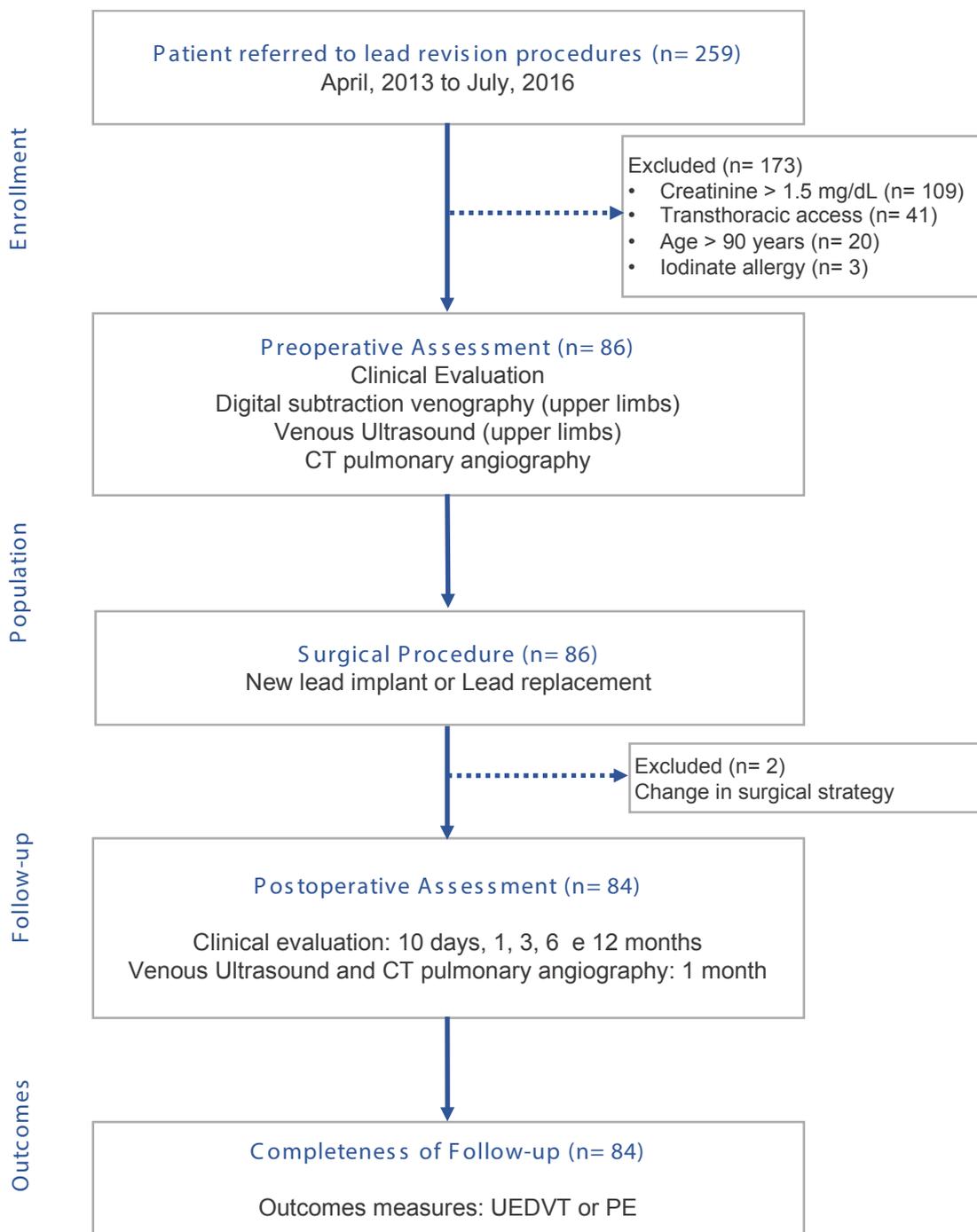


Figura 1 - Etapas do estudo e composição da população estudada.

## População

Foram incluídos, de forma consecutiva, 86 portadores de DCEI com indicação para reoperação para implante de novo cabo-eletrodo transvenoso.

Foram considerados elegíveis indivíduos adultos com DCEI há mais de seis meses e com disfunção em cabo-eletrodo ou necessidade de upgrade, à exceção dos casos com: via de acesso diferente da transvenosa pelas veias tributárias da veia cava superior; história pregressa de trombose venosa profunda ou embolia pulmonar; coagulopatia ou trombofilia conhecidas; gestação em curso; tratamento de neoplasia maligna; insuficiência renal com níveis de creatinina > 1,5 mg/dL ou alergia a contraste iodado. Durante o estudo, foram excluídos pacientes em que, por mudança do planejamento cirúrgico no momento intraoperatório, a manipulação intravascular não ocorreu.

## Desfechos do Estudo

Os desfechos analisados foram eventos clínicos sintomáticos ou assintomáticos de TEP ou de TVPMSS ipsilateral ao procedimento cirúrgico realizado, identificados por avaliação clínica e por exames de imagem.

## Exame de Venografia por subtração digital

A venografia por subtração digital foi realizada no pré-operatório, como parte dos exames de rotina. As imagens dinâmicas obtidas foram classificadas conforme a presença ou ausência de lesões venosas e de circulação colateral. As lesões venosas foram classificadas, de acordo com o grau de estenose, como: sem alteração significativa (menor que 50%), estenose moderada (de 51% a 70%), estenose grave (de 71% a 99%) e oclusão (100%). A circulação colateral foi classificada, com base no número e no calibre dos novos vasos formados, como: ausente, discreta, moderada ou acentuada.<sup>6,8</sup>

## Ultrassom com collar doppler venoso

A ultrassonografia venosa foi realizada, sempre pelo mesmo profissional, no pré-operatório e 30 dias após o procedimento cirúrgico. Teve como finalidade identificar casos agudos de TVPMSS ipsilateral ao dispositivo cardíaco. As imagens foram classificadas quanto à presença ou ausência de lesões venosas e de circulação colateral. Foram avaliados o calibre da veia, a espessura da parede, a compressibilidade, a mobilidade das válvulas, o fluxo, pelo doppler colorido com mapeamento anatômico do vaso e pelo doppler pulsado com onda espectral. Os exames foram classificados como normal ou com presença de trombose venosa, com ou sem recanalização.

## Angiotomografia computadorizada de Torax com protocolo para TEP

A angiotomografia computadorizada (Angio-TC) de tórax foi realizada no período pré-operatório e 30 dias após o procedimento cirúrgico. Sua finalidade foi detectar casos de TEP crônica prévia ao manuseio de cabos-eletrodos, assim como, a comprovação dos casos de tromboembolismo pulmonar com manifestações clínicas e a detecção de episódios assintomáticos deste desfecho. Para o diagnóstico de embolia pulmonar, foram considerados apenas os critérios maiores, ou seja, a presença ou ausência de trombos em ramos segmentares ou subsegmentares.

### Procedimentos cirúrgicos

Os procedimentos cirúrgicos seguiram as rotinas assistenciais da instituição. De uma maneira geral foram realizados dois tipos principais de procedimentos: (1) implante de novos cabos-eletrodos sem a remoção de cabo-eletrodo antigo ou (2) implante de novos cabos-eletrodos com a remoção de cabos-eletrodos antigos, pela necessidade de obtenção de via de acesso ou para evitar a superpopulação de cabos-eletrodos.

### Acompanhamento clínico - follow-up

O acompanhamento clínico teve por finalidade a pesquisa de sinais e sintomas de TVPMSS e de tromboembolismo pulmonar. Os pacientes que apresentaram complicações tromboembólicas receberam terapia anticoagulante oral (varfarina, dabigatrana, rivaroxabana ou apixabana) de acordo com as rotinas institucionais, não havendo interferência da equipe responsável pela pesquisa.

### Análise Estatística

Para a pesquisa de fatores de risco para os desfechos, foram analisados os efeitos das variáveis pré e intra operatórias testadas em estudos prévios e que se demonstraram possíveis preditoras de eventos trombóticos: idade, sexo, fração de ejeção do ventrículo esquerdo, uso de antiagregantes plaquetários, presença de cabo-eletrodo de CDI, número total de cabos-eletrodos transvenosos (em uso ou abandonados), tempo de uso de cabos-eletrodos transvenosos, presença de lesões venosas significativas na venografia pré-operatória, presença de circulação colateral moderada a acentuada na venografia prévia e remoção de cabos-eletrodos no presente estudo.

Para a comparação de médias entre os grupos com e sem os desfechos estudados, foi utilizado o teste t de Student; no entanto, quando a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada; utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para testar a homogeneidade entre as proporções das variáveis

independentes quanto à presença e/ou ausência dos desfechos estudados, empregou-se o teste qui-quadrado ou o teste exato de Fisher.

Com a finalidade de identificar fatores prognósticos para os desfechos estudados, foram desenvolvidos modelos de regressão logística multivariada pelo método stepwise. Nesse processo, foram consideradas as variáveis que apresentaram  $P \leq 0,10$  na análise univariada. As variáveis sexo e idade no momento do estudo, foram incluídas no modelo, independentemente do nível de associação identificado na análise univariada. A partir da regressão logística, estimou-se a magnitude do efeito das variáveis que constituíram o modelo final, calculando-se o odds ratio (OR) e seus respectivos intervalos de confiança (IC) de 95%.

Para a análise estatística utilizou-se o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 17.0, adotando-se o nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

As características basais da população estudada estão sumarizadas na Tabela 1. No momento da inclusão, a idade variou de 24 a 89 anos e o tempo de permanência dos cabos-eletrodos variou de um a 36 anos. Apenas 16,4% dos indivíduos já havia sido submetido a reoperação com manipulação intravascular prévia à realizada no presente estudo.

Venografia por subtração digital e angiotomografia torácica pré-operatórias foram realizadas em todos os pacientes. Lesões venosas significativas estavam presentes em 44,1% dos casos e circulação colateral venosa, em 52,4%. Sinais angiográficos de TEP foram detectados em apenas dois casos, com trombos intraluminais em ambos, em ramo segmentar em um e em ramo subsegmentar no outro. Ultrassonografia de membros superiores foi realizada em 89,3% dos casos. Destes, 12 (16,0%) apresentavam alterações compatíveis com obstrução venosa prévia ipsilateral ao dispositivo implantado. Tabela 1.

<b>Baseline characteristics</b>	
Female, n (%)	44 (52.4)
Age, mean $\pm$ SD	59.3 $\pm$ 15.2
Functional class (NYHA), n (%)	
I-II	65 (77.4)
III	19 (22.6)
Structural heart disease, n (%)	
None	34 (40.5)
Chagas' disease	19 (22.6)
Ischemic heart disease	6 (7.1)
Non-ischemic heart disease	25 (29.8)

Comorbidities, n (%)	
None	17 (20.2)
Systemic arterial hypertension	54 (64.3)
Diabetes	15 (17.9)
Dyslipidemia	28 (33.3)
Use of antiplatelet drugs, n (%)	25 (29.8)
Use of anticoagulants, n (%)	10 (11.9)
Left ventricular ejection fraction, mean $\pm$ SD	55.4 $\pm$ 14.7
Previous CIED	
Pacemaker, n (%)	64 (76.2)
ICD, n (%)	16 (19.0)
CRT, n (%)	2 (2.4)
CRT-D, n (%)	2 (2.4)
Total number of transvenous leads, n (%)	
One	20 (23.8)
Two	58 (69.0)
Three	5 (5.9)
Four	1 (1.2)
Dwelling time of transvenous leads, years	10.5 $\pm$ 7.6
Left sided implants, n (%)	43 (51.3%)
Venographic stenosis, n (%)	
Moderate	20 (23.8)
Severe	13 (15.5)
Occlusion	4 (4.8)
Collateral circulation, n (%)	
Absent	40 (47.6)
Mild	20 (23.8)
Moderate	12 (14.3)
Severe	12 (14.3)
Venous doppler ultrasound	
Normal	63 (84.0)
Alterations in venous flow	12 (16.0)
CT pulmonary angiography	
Normal	82 (97.6)
Signs of previous pulmonary embolism	2 (2.4)

Table 1 - Baseline characteristics of patients submitted to transvenous lead replacement or upgrade procedures.

CIED = cardiac implantable electronic device; ICD = implantable Cardioverter-defibrillator; CRT = cardiac resynchronization therapy; CRT-D = cardiac resynchronization therapy-defibrillator; Computed Tomography

## PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O implante de novo cabo-eletrodo sem remoção de cabo-eletrodo antigo foi realizado em 40 (47,6%) pacientes e com remoção de cabo-eletrodo em 44 (52,4%). Todos os pacientes foram submetidos a implante de pelos menos um novo cabo-eletrodo. No total, 110 novos cabos-eletrodos foram implantados, 51 removidos e

36 abandonados, três deles após tentativa de remoção por tração simples. (Tabela 2)

<b>Procedure and lead characteristics</b>	<b>N (%)</b>
Procedure indication	
Lead malfunction	63 (75.0)
Upgrade	21 (25.0)
Surgical strategy	
Transvenous lead implant without lead removal	40 (47.6)
Transvenous lead implant with lead removal	44 (52.4)
Transvenous lead removal technique	
Simple traction	18/44 (40.9)
TLE (Laser, mechanical not powered sheaths or rotational)	26/44 (59.1)
Transvenous lead removal outcomes	
Simple traction: complete success	15/18 (83.4)
Simple traction: lead abandonment	3/15 (16.6)
TLE complete success	18/26 (69.2)
TLE clinical success	8/26 (30.8)
Additional leads implanted	
Right atrial	35 (41.7)
Right ventricular pacing lead	44 (52.4)
Right ventricular ICD lead	16 (19.1)
Coronary sinus left ventricular lead	15 (17.9)
Number of removed leads	
None	46 (54.8)
One	26 (30.9)
Two	11 (13.1)
Three	1 (1.2)
Number of abandoned leads	
None	48 (57.1)
One	35 (41.7)
Two	1 (1.2)
Total number of leads at the end of the procedure	
One	4 (4.8)
Two	36 (42.9)
Three	37 (44.0)
Four	7 (8.3)
Device type at the end of the procedure	
Pacemaker (single / dual chamber)	49 (58.4)
ICD (single / dual chamber)	16 (19.0)
CRT-P	12 (14.3)
CRT-D	7 (8.3)

Table 2 – Transvenous lead replacement or upgrade procedures details.

TLE = Transvenous lead extraction; ICD = implantable cardioverter-defibrillator; CRT-P = cardiac resynchronization therapy; CRT-D = cardiac resynchronization therapy-defibrillator

## DESFECHOS

A taxa de eventos pós-operatórios, clínicos ou subclínicos, foi de 35,7%, com 24 (28,6%) casos de TVPMSS e 6 (7,1%) de TEP.

A avaliação ultrasonográfica pos-operatória foi realizada em todos os pacientes e mostrou alterações do fluxo sanguíneo compatíveis com obstrução venosa em 30 deles. Destes, seis foram considerados como sendo portadores de trombose venosa crônica por já terem obstrução detectada no exame pre-operatório e não foram computados para a análise do desfecho primário. Manifestações clínicas de trombose venosa profunda, entretanto, ocorreram em apenas 10 (11,9%) pacientes do estudo.

Angiotomografia torácica com estudo da circulação pulmonar pós-operatória foi realizada em todos os pacientes com achados compatíveis com TEP em 7 (8,3%) casos. A comparação com as imagens pré-operatórias mostrou que um paciente manteve exatamente o mesmo padrão do exame anterior, sugerindo embolia pulmonar crônica. Desse modo, foram computados seis casos de embolia pulmonar como evento pós-operatório. Não houve manifestações clínicas compatíveis com embolia pulmonar.

A concomitância dos dois eventos pesquisados ocorreu em apenas dois (2,4%) casos, um deles com quadro clínico de trombose venosa profunda e o outro, sem manifestação clínica.

## FATORES ASSOCIADOS COM A OCORRÊNCIA DOS DESFECHOS DO ESTUDO

A ocorrência de TVPMSS no membro superior ipsilateral ao procedimento cirúrgico apresentou associação significativa com a não utilização de antiplaquetários ( $P=0,097$ ), a presença de circulação colateral moderada ou acentuada na flebografia preoperatória ( $P=0,026$ ) e a remoção de cabos-eletrodos ( $P=0,003$ ). (Tabela 3)

Patient's characteristics	No UEDVT (n = 60)	UEDVT (n = 24)	P	No PE (n = 78)	PE (n = 6)	P
Age	60.0 ± 15.3	57.4 ± 15.2	0.473	59.4 ± 15.3	58.0 ± 16.4	0.833
Gender						
Male	29 (48.3)	11 (45.8)	0.836	38 (48.7)	2 (33.3)	0.678
Female	31 (51.7)	13 (54.2)		40 (51.3)	4 (66.7)	
Use of anticoagulants	7 (11.7)	3 (12.5)	1.000	9 (11.5)	1 (16.7)	0.544
Use of antiplatelet drugs	21 (35)	4 (16.7)	0.097	25 (32.1)	-	0.172
LVEF (%), mean ± SD	55.9 ± 14.7	54.1 ± 15.1	0.616	54.9 ± 15.1	61.7 ± 7.4	0.280
ICD lead						

Yes	11 (18.3)	7 (29.2)	0.274	16 (20.5)	2 (33.3)	0.604
No	49 (81.7)	17 (70.8)		62 (79.5)	4 (66.7)	
Dwelling time of transvenous leads, years	11.1 ± 8.3	9.1 ± 4.7	0.512	10.5 ± 7.6	11.5 ± 7.0	0.554
Previous lead revision procedures						
Yes	8 (13.3)	2 (8.3)		10 (12.8)	-	1.000
No	52 (86.7)	22 (91.7)	0.717	68 (87.2)	6 (100)	
Baseline venographic findings						
Presence of venous lesions	25 (41.7)	14 (58.3)	0.166	37 (47.4)	2 (33.3)	0.681
Collateral circulation (moderate / severe)	13 (21.7)	11 (45.8)	0.026	23 (29.5)	1 (16.7)	0.668
Surgical strategy						
Transvenous lead implant without lead removal	36 (60)	4 (16.7)		39 (50)	1 (16.7)	
Transvenous lead implant with lead removal	24 (40)	20 (83.3)	0.003	39 (50)	5 (83.3)	0.204
Number of removed leads						
None	38 (63.3)	8 (33.3)		45 (57.7)	1 (16.7)	
One	17 (28.3)	9 (37.5)		23 (29.5)	3 (50)	
Two	5 (8.3)	6 (25)	0.015	9 (11.5)	2 (33.3)	0.105
Three	-	1 (4.2)		1 (1.3)	-	
Transvenous lead removal						
No lead removal	36 (60)	4 (16.7)		39 (50)	1 (16.7)	
Simple traction: complete success	13 (21.7)	2 (8.3)		14 (18)	1 (16.7)	
Simple traction: lead abandonment	2 (3.3)	1 (4.2)		3 (3.9)	-	
TLE complete success	7 (11.7)	11 (45.8)	< 0.001	15 (19.2)	3 (50)	0.224
TLE clinical success	2 (3.3)	6 (25)		7 (9)	1 (16.7)	
Number of leads at the end of the procedure						
1 – 2 leads	27 (45)	13 (54.2)		36 (46.1)	4 (66.7)	0.418
3 – 4 leads	33 (55)	11 (45.8)	0.447	42 (53.9)	2 (33.3)	
Device type at the end of the procedure						
Pacemaker (single / dual chamber)	35 (58.3)	14 (4.2)		46 (59.0)	3 (50.0)	

ICD – ventricular (single / dual chamber)	11 (17.7)	5 (20.8)	0.540	13 (16.6)	3 (50)	0.071
CRT	10 (16.7)	2 (8.3)		12 (15.4)	-	
CRT-D	4 (6.7)	3 (12.5)		7 (9)	-	

Table 3 – Predictors of upper extremity deep venous thrombosis and pulmonary embolism after transvenous lead replacement or upgrade procedures.

UEDVT = upper extremity deep venous thrombosis; PE= pulmonary embolism; ICD = implantable Cardioverter-defibrillator; TLE = Transvenous Lead Extraction; CRT = cardiac resynchronization therapy; CRT-D = cardiac resynchronization therapy-defibrillator

O modelo de regressão logística identificou fatores de risco independentes para TVPMSS: o achado de circulação colateral moderada ou acentuada na venografia pré-operatória, que aumentou em 4,7 vezes a chance de ocorrência deste desfecho (OR= 4.7 [CI 95% 1.1 – 19.8], P= 0.037) e a remoção de cabos-eletrodos, que aumentou em 27,4 vezes a chance de TVPMSS (OR= 27.4 [CI 95% 5.8 – 128.8], P <0.0001).

A elevada taxa de ocorrência de TVPMSS nos pacientes submetidos a remoção de cabos-eletrodos, permitiu que se avaliasse a influência do tipo de remoção realizada e do resultado desse procedimento. A remoção completa de um cabo-eletrodo por tração simples esteve associada a uma taxa de ocorrência de TVPMSS de 13,3% (OR= 1.4 [CI 95% 0.2-8.5], P= 0.725). Nos pacientes submetidos a extração transvenosa com sucesso completo a frequência de TVPMSS aumentou para 61,1% (OR= 14.2 [CI 95% 3.5-57.5], P< 0.001) e nos casos de extração transvenosa incompleta a taxa de ocorrência de TVPMSS foi de 75,0% (OR= 27.0 [CI 95% 4.0-181.4] P< 0.001).

Não foram detectados fatores associados ao aparecimento de TEP dentre as variáveis estudadas.

## DISCUSSÃO

O trauma endotelial e a diminuição do fluxo venoso provocados pela manipulação intravascular para o implante ou remoção de cabos-eletrodos desencadeiam resposta inflamatória, liberação dos fatores de coagulação e o desenvolvimento de circulação colateral, que, em conjunto, favorecem a manutenção de estado pró-trombótico e a redução do fluxo venoso no território afetado.<sup>4,5</sup> Dessa forma, a lesão endotelial, a estase venosa e a hipercoaguabilidade, que são os três principais mecanismos fisiopatológicos do tromboembolismo venoso, estão presentes nesses procedimentos cirúrgicos e podem apresentar efeitos cumulativos.<sup>15,16</sup>

A elevada taxa de desfechos tromboembólicos subclínicos observada no presente estudo confirmou nossa hipótese de que muitos eventos com potencial gravidade não são diagnosticados no acompanhamento rotineiro de portadores de DCEI. Os métodos diagnósticos por imagem empregados foram fundamentais tanto para a confirmação do diagnóstico nos pacientes com manifestações clínicas, quanto para o reconhecimento de eventos subclínicos.<sup>17-20</sup> À exceção da realização dos exames específicos para a pesquisa da TVPMSS e da TEP, o desenho desta pesquisa buscou não interferir nas rotinas assistenciais estabelecidas e o tratamento dos pacientes.

A ultrassonografia com doppler tem sido o método mais utilizado para o diagnóstico da trombose venosa profunda aguda de membros superiores por suas sensibilidade e especificidade próximas a 90%.<sup>22</sup> Como a obstrução ao fluxo se inicia logo após o procedimento cirúrgico e persiste por mais de 30 dias, o momento da realização do exame no estudo foi adequado para a detecção destes desfechos.<sup>20,23,24</sup> Esta avaliação definiu o diagnóstico de obstrução pós-operatória das veias subclávia ou denominada ipsilaterais ao procedimento realizado em 35,7% dos pacientes estudados. Por outro lado, o estudo basal permitiu a exclusão do diagnóstico de trombose aguda em seis casos nos quais uma obstrução já existia previamente.

A expressiva taxa de ocorrência destes eventos confirmou a observação da prática clínica de que este problema é comum após manipulação intravascular de pacientes com DCEI e permitiu o achado de fatores de risco para esse desfecho.<sup>11,12,13,23,25</sup> Dentre as variáveis que se associaram à ocorrência da TVPMSS, duas se mostraram preditoras independentes: a circulação colateral presente na flebografia pré-operatória, que aumentou em 4,7 vezes a chance de ocorrer esse desfecho e a extração de cabos-eletrodos, que aumentou em 27 vezes esse risco. Como esse é o primeiro estudo que avaliou prospectivamente a ocorrência de TVPMSS em pacientes submetidos a reoperações, não existem dados na literatura que permitam uma comparação com os achados da presente análise.

Dos 44 pacientes designados para remoção de cabos-eletrodos, 18 foram abordados por tração simples e 26 com ferramentas especiais de extração. Vários tipos de ferramentas foram usados: dilatadores mecânicos não energizados, lâminas rotatórias ou bainhas energizadas por Laser. A demonstração de que a extração de cabos-eletrodos é o fator de risco independente mais significativo para a TVPMSS fortalece a hipótese de que a adoção de medidas preventivas para eventos trombóticos pode ser de grande valia nesse subgrupo específico de pacientes. Outra observação da presente amostra aponta que a extração incompleta pode aumentar ainda mais a chance de ocorrência desse desfecho.

A sensibilidade reportada da angiotomografia torácica com contraste iodado

para a pesquisa da TEP é de 83%, com especificidade de 95%.<sup>26,27</sup> Em virtude da possibilidade de resolução espontânea da embolia pulmonar por ação de agentes fibrinolíticos endógenos, a realização do exame em até 30 dias após o procedimento cirúrgico teve por finalidade aumentar as chances de identificação de eventos subclínicos.<sup>17,19,26</sup>

Esta avaliação demonstrou que sete indivíduos tiveram TEP, o que representou 8,3% dos pacientes estudados. Por outro lado, a realização do exame também no momento basal permitiu a exclusão do diagnóstico de TEP agudo em um paciente cuja alteração já existia previamente. A expressiva taxa de ocorrência de casos assintomáticos de TEP confirmou a observação de necropsias nas quais muitos casos de TEP passam despercebidos após o manuseio do território venoso para implante de dispositivos.<sup>28</sup> Por outro lado, a baixa taxa de concomitância desse problema com a TVPMSS observada na presente série fala a favor da importância de se pesquisar outros marcadores, clínicos ou laboratoriais, para a ocorrência da TEP.<sup>17,29</sup> Apesar do número representativo de casos de TEP pós-operatória na presente amostra, que representou uma incidência de 7,1%, fatores predisponentes para este desfecho não foram identificados.

## LIMITAÇÕES

A despeito da demonstração de que a ocorrência de eventos clínicos é frequente em pacientes submetidos a implantes de novos cabos-eletrodos, especialmente quando a remoção também é realizada, esses conceitos não podem ser generalizados para todos os pacientes submetidos a esses procedimentos. Pelos critérios de elegibilidade do presente estudo, crianças e nonagenários não foram representados, tampouco pacientes em tratamento de processos infecciosos relacionados ao DCEI ou com função renal alterada.

Apesar da alta taxa de lesões venosas que ocorrem após o implante de DCEI, das dificuldades que essas lesões acarretam às reoperações, da morbidade relacionada a esses eventos tromboembólicos, do potencial letal dessas complicações e, principalmente, das evidências já conhecidas sobre a eficácia do uso de anticoagulantes orais para a prevenção desse problema,<sup>8</sup> ainda não é possível recomendar o uso de anticoagulantes ou de antiplaquetários com o objetivo de se reduzir a taxa de ocorrência de lesões tromboembólicas graves, uma vez que esses fármacos não foram testados neste presente estudo.

## CONCLUSÕES

Complicações tromboembólicas graves, representadas pela TVPMSS ipsilateral ao DCEI e pela TEP, são frequentes e muitas vezes subdiagnosticadas no pós-operatório de reoperações como manipulação intravascular dos cabos-eletrodos.

A extração transvenosa de cabos-eletrodos está fortemente associada à ocorrência de TVPMSS e é um fator prognóstico independente para esse desfecho.

Os resultados do presente estudo demonstram a importância do monitoramento de complicações tromboembólicas quando se manuseia o território venoso em que existe cabos-eletrodos previamente implantados, assim como a necessidade de se conduzir novos estudos direcionados ao estabelecimento de estratégias preventivas para esse subgrupo de pacientes.

## REFERÊNCIAS

Korkeila P, Nyman K, Ylitalo A, Koistinen J, Karjalainen P, Lund J, Airaksinen KE. **Venous obstruction after pacemaker implantation.** *Pacing Clin Electrophysiol.* 2007;30(2):199-206.

Pieper CC, Weis V, Fimmers R, Rajab I, Linhart M, Schild HH, Nähle CP. **Venous Obstruction in Asymptomatic Patients Undergoing First Implantation or Revision of a Cardiac Pacemaker or Implantable Cardioverter-Defibrillator: A Retrospective Single Center Analysis.** *Rofo.* 2015;187(11):1029-35.

Rozmus G, Daubert JP, Huang DT, Rosero S, Hall B, Francis C. **Venous thrombosis and stenosis after implantation of pacemakers and defibrillators.** *J Interv Card Electrophysiol.* 2005;13:9-19.

Haghjoo M, Nikoo MH, Fazelifar AF, Alizadeh A, Emkanjoo Z, Sadr-Ameli MA. **Predictors of venous obstruction following pacemaker or implantable cardioverter-defibrillator implantation: a contrast venographic study on 100 patients admitted for generator change, lead revision, or device upgrade.** *Europace.* 2007;9:328-32.

Santini M, Di Fusco SA, Santini A, Magris B, Pignalberi C, Aquilani S, Colivicchi F, Gargaro A, Ricci RP. **Prevalence and predictor factors of severe venous obstruction after cardiovascular electronic device implantation.** *Europace.* 2016;18(8):1220-6 1.

da Costa SS, Scalabrini Neto A, Costa R, Caldas JG, Martinelli Filho M **Incidence and risk factors of upper extremity deep vein lesions after permanent transvenous pacemaker implant: a 6-month follow-up prospective study.** *Pacing Clin Electrophysiol.* 2002;25:1301-6.

Boczkar K, Ząbek A, Haberka K, Hardzina M, Dębski M, Rydlewska A, Nowosielska-Ząbek E, Lelakowski J, Małacka, B. **Venous Stenosis and Occlusion in the Presence of Endocardial Leads.** *Adv Clin Exp Med.* 2016;25(1):83-91.

Costa R, Silva KR, Rached RA, Martinelli Filho M, Carnevale FC, Moreira LFP, Stolf NAG. **Prevention of venous thrombosis by warfarin after permanent transvenous leads implantation in high-risk patients.** *Pacing Clin Electrophysiol.* 2009;32(Suppl. 1):S247-51.

Abu-El-Haija B, Bhave PD, Campbell DN, Mazur A, Hodgson-Zingman DM, Cotarlan V, Giudici MC. **Venous Stenosis after transvenous lead placement: a study of outcomes and risk factors in 212 consecutive patients.** *J Am Heart Assoc.* 2015;4(8):e001878.

Kusumoto FM, Schoenfeld MH, Wilkoff BL, Berul CI, Birgersdotter-Green UM, Carrillo R, Cha YM, Clancy J, Deharo JC, Ellenbogen KA, Exner D, Hussein AA, Kennergren C, Krahn A, Lee R, Love CJ, Madden RA, Mazzetti HA, Moore JC, Parsonnet J, Patton KK, Rozner MA, Selzman KA, Shoda M, Srivathsan K, Strathmore NF, Swerdlow CD, Tompkins C, Wazni O. **2017 HRS expert consensus statement on cardiovascular implantable electronic device lead management and extraction.** *Heart Rhythm.* 2017; S1547-5271(17)31080-9.

Pedersen SB, Hjortshøj SP, Bøtker HE, Farkas DK, Schmidt M, Sørensen HT, Nielsen JC. **Venous thromboembolism in patients with implantable cardioverter-defibrillators.** *Europace.* 2017;19(6):991-1001.

Bracke F, Meijer A, van Gelder B. **Venous occlusion of the access vein in patients referred for lead extraction: influence of patient and lead characteristics.** *Pacing Clin Electrophysiol.* 2003;26:1649-52.

Hanninen M, Cassagneau R, Manlucu J, Yee R. **Extensive Thrombosis Following Lead Extraction: Further Justification for Routine Post-operative Anticoagulation.** *Indian Pacing Electrophysiol J.* 2014;14(3):150-1.

Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCAP) - **A metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support.** *J Biomed Inform.* 2009;42(2):377-81.

Reitsma PH, Versteeg HH, Middeldorp S. **Mechanistic View of risk factors for venous thromboembolism.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(3):563-8.

Albayati MA, Grover SP, Saha P, Lwaleed BA, Modarai B, Smith A. **Postsurgical Inflammation as a Causative Mechanism of Venous Thromboembolism.** *Semin Thromb Hemost.* 2015;41(6):615-20.

Stein PD, Matta F, Musani MH, Diaczok B. **Silent pulmonary embolism in patients with deep venous thrombosis: a systematic review.** *Am J Med.* 2010;123(5):426-31.

Chan NC, Stehouwer AC, Hirsh J, Ginsberg JS, Alazzoni A, Coppens M, Guyatt GH, Eikelboom JW. **Lack of consistency in the relationship between asymptomatic DVT detected by venography and symptomatic VTE in thromboprophylaxis trials.** *Thromb Haemost.* 2015;114(5):1049-57.

di Nisio M, van Es N, Büller HR. **Deep vein thrombosis and pulmonary embolism.** *Lancet.* 2016;388(10063):3060-73.

van Es N, Bleker SM, Di Nisio M, Kleinjan A, Beyer-Westendorf J, Camporese G, Aggarwal A, Verhamme P, Righini M, Büller HR, Bossuyt PM. **Improving the diagnostic management of upper extremity deep vein thrombosis.** *J Thromb Haemost.* 2017;15(1):66-73.

Heil J, Miesbach W, Vogl T, Bechstein WO, Reinisch A. **Deep vein thrombosis of the upper extremity. A Systematic Review.** *Dtsch Arztebl Int.* 2017;114(14):244-249.

di Nisio M, Van Sluis GL, Bossuyt PM, BüllerHR, Porreca E, Rutjes AW. **Accuracy of diagnostic tests for clinically suspected upper extremity deep vein thrombosis: a systematic review.** *J Thromb Haemost.* 2010;8(4):684-692.

Kraaijpoel N, van Es N, Porreca E, Büller HR, Di Nisio M. **The diagnostic management of upper extremity deep vein thrombosis: A review of the literature.** *Thromb Res.* 2017;156:54-5.

Baumann Kreuziger L, Jaffray J, Carrier M. **Epidemiology, diagnosis, prevention and treatment of catheter-related thrombosis in children and adults.** *Thromb Res.* 2017;157:64-71.

Lelakowski J, Domagała TB, Rydlewska A, Januszek R, Kotula-Horowitz K, Majewski J, et

al. **Relationship between changes in selected thrombotic and inflammatory factors, echocardiographic parameters and the incidence of venous thrombosis after pacemaker implantation based on our own observations.** *Arch Med Sci.* 2012;8(6):1027-34.

Stein PD, Fowler SE, Goodman LR, Gottschalk A, Hales CA, Hull RD, Leeper KV Jr, Popovich J Jr, Quinn DA, Sos TA, Sostman HD, Tapson VF, Wakefield TW, Weg JG, Woodard PK; **PIOPED II Investigators. Multidetector computed tomography for acute pulmonary embolism.** *N Engl J Med.* 2006;354(22):2317-27.

Konstantinides SV, Torbicki A, Agnelli G, Danchin N, Fitzmaurice D, Galiè N, Gibbs JS, Huisman MV, Humbert M, Kucher N, Lang I, Lankeit M, Lekakis J, Maack C, Mayer E, Meneveau N, Perrier A, Pruszczyk P, Rasmussen LH, Schindler TH, Svitil P, Vonk Noordegraaf A, Zamorano JL, Zompatori M; **Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC). 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism.** *Eur Heart J.* 2014;35(43):3033-69.

Novak M, Dvorak P, Kamaryt P, Slana B, Lipoldova J. **Autopsy and clinical context in deceased patients with implanted pacemakers and defibrillators: intracardiac findings near their leads and electrodes.** *Europace.* 2009;11:1510-6.

Noheria A, Ponamgi SP, Desimone C V, Vaidya VR, Aakre CA, Ebrille E, Hu T, Hodge DO, Slusser JP, Ammash NM, Bruce CJ, Rabinstein AA, Friedman PA, Asirvatham SJ. **Pulmonary embolism in patients with transvenous cardiac implantable electronic device leads.** *Europace.* 2015;18(2):246-52.

## EVOLUÇÃO DAS ANASTOMOSES MANUAIS COM BYPASS GÁSTRICO ROBÓTICO

Data de aceite: 19/11/2018

### **Raquel Mourisca Rabelo**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Gilberto Daniel Travecedo Ramos**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Clara Taís Tomaz de Oliveira**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Miriana Sousa Carneiro**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Bruna Sousa Ribeiro**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Maria Vitoria Evangelista Benevides Cavalcante**

Discente do curso de Medicina do Centro  
Universitário INTA (UNINTA)

### **Gilberto Esteban Travecedo Cervantes**

Médico

**Introdução:** A sutura laparoscópica sempre foi considerada como uma habilidade diferenciada. Isso devido a várias limitações da laparoscopia, como a visão bidimensional e a falta de articulações nas pinças. No robô Da Vinci o cirurgião opera dentro de

um console ergonômico, com o controle de três braços e da câmera. As pinças do robô têm várias articulações que imitam os movimentos da mão humana, bem como uma visão tridimensional. **Objetivo:** Demonstrar realização de anastomoses manuais usando a tecnologia robótica no by-pass gástrico laparoscópico. **Métodos:** Ao acompanhar tal procedimento cirúrgico, realizado pelo grupo de cirurgia robótica do hospital Monte Klinikum, pode-se observar diversas angulações feitas pelas pinças robóticas e a facilidade com que as suturas são realizadas. Foram realizadas 76 anastomoses, sem complicações. Usou-se o robô Da Vinci para realizar o by-pass gástrico, montando-se um tubo gástrico de 6 cm desde a junção esofagogástrica. As alças alimentar e biliopancreática foram de 100 cm cada. As anastomoses gastro-entero e entero-entero foram realizadas manualmente usando dois fios para cada. O tempo médio de cada anastomose foi de 18 minutos. **Resultados:** As suturas intra-abdominais por laparoscopia sempre foram consideradas tecnicamente desafiadoras e, por muito tempo, afastou cirurgiões digestivos de laparoscopias complexas. Com maior experiência de cirurgiões desbravadores e a disseminação das estações de treinamento, tal dificuldade tem sido superada, mas ainda

de modo lento. Provavelmente, devido a visão laparoscópica ser bidimensional, instrumentos pouco ergonômicos e articulados, bem como a dependência de um auxiliar para manter a visão do campo operatório, principalmente em cirurgias longas, já que pequenos movimentos feitos pelo câmera refletem como amplos na tela e causam desconforto e perda da atenção. Já na tecnologia robótica disponível atualmente, o cirurgião tem controle de 3 braços e da câmera de maneira estável. Tais fatores facilitam a realização de cirurgias laparoscópicas complexas, com ou sem suturas, e em regiões de acesso difícil para laparoscopia sem uso do robô, como, por exemplo, a pelve masculina e a parede abdominal anterior. **Conclusão:** Na experiência inicial do grupo de cirurgia robótica do hospital supracitado, as anastomoses manuais no by-pass gástrico robótico foram seguras e fáceis de serem realizadas, além de mais práticas e rápidas, sendo portanto, mais eficientes.

## REFERÊNCIA

ELIAS, Alexandre Amado et al . Robotic-assisted bariatric surgery: case series analysis and comparison with the laparoscopic approach. Rev. Col. Bras. Cir., Rio de Janeiro, v. 45, n. 3, e1806, 2018. CIRURGIA ROBÓTICA E O FUTURO DA CIRURGIA BARIÁTRICA; Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabologia.

## GESTAÇÃO NA ADOLESCÊNCIA: OPORTUNIDADE PARA A PROMOÇÃO DE HÁBITOS ALIMENTARES SAUDÁVEIS

Data de aceite: 19/11/2018

### Ana Rafaella de Padua Lima

Universidade Comunitária da Região de Chapecó  
– Unochapecó  
Área de Ciências da Saúde  
Chapecó – SC

### Tatiana Honório Garcia

Universidade Comunitária da Região de Chapecó  
– Unochapecó  
Área de Ciências da Saúde  
Chapecó – SC

### Roberta Lamonatto Taglietti

Universidade Comunitária da Região de Chapecó  
– Unochapecó  
Área de Ciências da Saúde  
Chapecó – SC

### Carla Rosane Paz Arruda Teo

Universidade Comunitária da Região de Chapecó  
– Unochapecó  
Área de Ciências da Saúde  
Chapecó – SC

**RESUMO:** o objetivo do estudo foi analisar o perfil do consumo alimentar de gestantes adolescentes da Região Sul do Brasil, período de 2008 a 2014. Trata-se de estudo analítico, que utilizou dados secundários de acesso público dos relatórios do SISVAN. Realizou-se

análise estatística descritiva e inferencial dos dados consumo de marcadores de alimentação saudável e não saudável, os quais foram categorizados em consumo alimentar zero (nenhum dia/semana), esporádico (1-4 dias/semana) e regular (5-7 dias/semana). Aplicou-se o teste Qui-quadrado de *Pearson* e o de resíduos ajustados, com nível de significância de 5% e intervalo de confiança de 95%, por meio do SPSS® versão 22.0. Analisou-se 46.769 formulários (23.987 adolescentes, 5.575 gestantes adolescentes e 17.207 gestantes adultas). Evidenciou que o padrão alimentar das gestantes adolescentes se configurou pelo consumo zero de legumes e verduras cozidos e pelo consumo regular de frutas frescas, batata frita, batata de pacote e salgados fritos e refrigerantes. O consumo alimentar das adolescentes se caracterizou pelo consumo zero de três dos marcadores saudáveis, consumo esporádico de feijão e por consumir regularmente quatro marcadores não saudáveis. Já o padrão alimentar das gestantes adultas embasou-se pelo consumo regular de quatro marcadores saudáveis, consumo esporádico de feijão e consumo zero de todos os marcadores não saudáveis. Conclui-se que o consumo alimentar das gestantes adolescentes tem características de transição entre o das

adolescentes e o das gestantes adultas, o que reforça a importância de que sejam concentrados esforços em ações de educação em saúde que promovam sua melhoria e perenidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Gestação na Adolescência. Consumo alimentar na adolescência. Nutrição da Adolescente grávida.

## ADOLESCENCE PREGNANCY: OPPORTUNITY FOR PROMOTING HEALTHY FOOD HABITS

**ABSTRACT:** The purpose of this study was to analyze the food consumption profile of adolescent pregnant women in the Southern Region of Brazil, from 2008 to 2014. This is an analytical study, which used secondary public access data from the SISVAN. Descriptive and inferential statistical analysis was performed on the consumption of healthy and unhealthy food markers, which were categorized into zero (none day/week), sporadic (1-4 days/week) and regular (5-7 days/week). Pearson's Chi-square test and adjusted residuals were applied, with a significance level of 5% and a confidence interval of 95%, using the SPSS®, version 22.0. We analyzed 46,769 forms (23,987 adolescents, 5,575 pregnant adolescents and 17,207 pregnant women). It evidenced that the eating pattern of the adolescent pregnant women was configured by the zero consumption of cooked vegetables and the regular consumption of fresh fruits, potato chips, potato chips and salty fried foods and soft drinks. Adolescent food intake was characterized by zero consumption of three of the healthy markers, sporadic consumption of beans and regular consumption of four unhealthy markers. Already the eating pattern of adult pregnant women was based on the regular consumption of four healthy markers, sporadic consumption of beans and zero consumption of all unhealthy markers. It is concluded that the dietary intake of adolescent pregnant women has characteristics of transition between adolescent and adult pregnant women, which reinforces the importance of concentrating efforts on health education actions that promote their improvement and perpetuity.

**KEYWORDS:** Pregnancy in Adolescence. Food consumption in adolescence. Nutrition of pregnant teenager.

### 1 | INTRODUÇÃO

A gravidez na adolescência é um fenômeno de saúde global associado, frequentemente, a elevadas taxas de morbimortalidade materna e de resultados neonatais adversos. A Organização Mundial da Saúde (WHO, 1986) define a adolescência como uma etapa do crescimento e desenvolvimento humano marcada por intensas transformações físicas, psíquicas e sociais, compreendida entre os 10 e 19 anos de idade. Por ser uma fase do ciclo da vida que se caracteriza pela

exposição a vulnerabilidades, como uso de álcool e drogas, violência sexual, física e psicológica (BRASIL, 2013), a ocorrência de gestação pode representar um complicador adicional para a saúde das jovens e de seus filhos (GAIO, 2013).

A região da América Latina e Caribe tem a segunda maior taxa estimada de fecundidade na adolescência do mundo, de 66,5 nascimentos por 1.000 adolescentes de 15 a 19 anos no período 2010-2015, enquanto a média mundial é de 46 nascimentos por 1.000 adolescentes na mesma faixa etária. Esses dados revelam a dimensão que o fenômeno assume no Brasil, que tem uma taxa de 68,4 para o mesmo período e grupo populacional (OPAS; UNFPA; UNICEF, 2018). No Brasil, em 2016, foram registrados 501.381 nascidos vivos de gestantes adolescentes, com proporções de 28,2% de pré-natal inadequado e de 9,6% de baixo peso ao nascer (BRASIL, 2016).

Diante desse contexto, pondera-se que a sociedade e, mais especificamente, os profissionais de saúde precisam lidar com o fenômeno da gestação na adolescência a partir de, pelo menos, duas frentes. Por um lado, há que se implantar medidas efetivas de prevenção que permitam acelerar a redução das taxas apontadas. Por outro, é preciso qualificar a atenção e o cuidado à saúde das adolescentes que, a despeito das políticas e ações preventivas, engravidam.

Nesse sentido é que se desenvolveu o presente estudo, com base na premissa de que a alimentação e a nutrição são importantes determinantes de saúde e que, na atualidade está em curso um processo de deterioração da qualidade do padrão alimentar das populações, que se traduz no aumento do consumo de alimentos ultraprocessados, de rápido e fácil preparo, com altos teores de gorduras saturadas e *trans*, açúcar e sódio. Em paralelo, observa-se uma redução do consumo de alimentos básicos tradicionais de alta densidade nutricional (TEO et al., 2014).

Este perfil de consumo alimentar tem repercutido em aumento da prevalência das doenças crônicas não transmissíveis, o que tem especial significado na fase da adolescência, frente ao surgimento cada vez mais precoce destes agravos. No Brasil, alguns alimentos têm sido adotados pelo Ministério da Saúde como marcadores de alimentação saudável (feijão, leite, iogurte, frutas e hortaliças) e não saudável (embutidos, bolachas e biscoitos salgados, salgadinhos de pacote, salgados fritos, bolachas e biscoitos doces ou recheados, doces, balas e chocolate, refrigerante) (BRASIL, 2008). O princípio que orienta a ideia de marcadores de consumo alimentar é o de proporcionar, de forma rápida e simples, o reconhecimento de práticas que se relacionam à promoção e prevenção em saúde ou a riscos e vulnerabilidades. Assim, conhecer o perfil de consumo, em termos de alimentos considerados marcadores, indica o que deve ser enfatizado pelos profissionais de saúde para a adoção de práticas alimentares mais adequadas pela população (BRASIL, 2015).

De maneira geral, inquéritos nacionais de saúde têm reportado que adolescentes consomem pouca variedade e pouca quantidade de legumes, verduras e frutas, dando preferência a lanches e similares, ricos em açúcares e gorduras (TEO et al., 2014). Muitos adolescentes têm conhecimentos sobre alimentação saudável, mas nem sempre aplicam as informações de que dispõem, devido a vários fatores que interferem em suas escolhas alimentares, como a praticidade e o acesso aos produtos industrializados e o *marketing* agressivo que incentiva o consumo desses produtos (SILVA et al., 2015).

Esta realidade não parece ser diferente para as adolescentes gestantes. Estudos realizados sobre o tema têm indicado que o padrão alimentar de adolescentes grávidas é impróprio, especialmente pela pouca diversificação da dieta, baixo consumo de frutas, verduras e legumes, e elevado de refrigerantes e bebidas açucaradas, doces, sanduíches e salgadinhos industrializados (BELARMINO et al., 2009; SOUZA et al., 2013; MORAES; MORAES; RIBEIRO, 2014). Em decorrência desse perfil de consumo, têm sido reportadas elevadas prevalências de anemia ferropriva (PESSOA et al., 2015) e de consumo inadequado de vitaminas A, E (SOUZA et al., 2016) e C, este último com tendência a ser mais baixo entre gestantes adolescentes do que entre as adultas (MALTA et al., 2008). Apesar do panorama brevemente apontado, gestantes adolescentes referem a percepção de que sua alimentação deve ser diferenciada durante a gravidez (BELARMINO et al., 2009), já tendo sido demonstrado que o início do acompanhamento pré-natal no primeiro trimestre está associado à melhora na qualidade da alimentação (BRITO et al., 2016).

Contudo, apesar da importância destes eventos – adolescência e gestação – para a saúde atual e futura de mãe e filho, visto o aumento do aporte nutricional implicado nestas situações, considera-se que ainda são insuficientes os estudos que avaliam o consumo alimentar de adolescentes gestantes, principalmente em nível populacional. Duas revisões de literatura realizadas sobre o tema ilustram essas ponderações: uma revisão sistemática com estudos publicados entre 2002 e 2012 localizou apenas seis artigos (COSTA; NEVES, 2013), e uma revisão sistematizada com estudos publicados entre 2003 e 2014 encontrou também seis estudos (BUENO; BESERRA; WEBER, 2016), ambas totalizando nove pesquisas diferentes sobre a alimentação de gestantes adolescentes.

Diante do exposto, emergiu como problemática de pesquisa a condição da gestante adolescente como promotora de um consumo alimentar mais saudável. Neste sentido, o objetivo desse estudo foi analisar o perfil do consumo alimentar de gestantes adolescentes, buscando reconhecer pontos críticos que precisem ser enfrentados no processo de atenção à saúde, assim como tendências mais favoráveis a uma alimentação saudável nesta população, a serem reforçadas e

fortalecidas.

## 2 | METODOLOGIA

Foi realizado um estudo analítico a partir dos dados de consumo de marcadores alimentares registrados eletronicamente no Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN), disponíveis em acesso público (BRASIL, 2008; 2009; 2010; 2011; 2012; 2013; 2014). Para atender ao objetivo proposto, o consumo alimentar de adolescentes e o de gestantes adultas foi tomado como balizador para a análise do consumo das gestantes adolescentes. Assim, foram coletados, no segundo semestre de 2016, dados de todas as adolescentes, gestantes adolescentes e gestantes adultas, residentes na região Sul do Brasil que utilizaram a rede de serviços do Sistema Único de Saúde (SUS) no período de 2008 a 2014 e que responderam ao formulário de consumo de marcadores alimentares, estando cadastradas anonimamente no SISVAN.

Os dados de consumo de marcadores alimentares saudáveis ('salada crua', 'legumes e verduras cozidas', 'frutas frescas ou salada de frutas', 'feijão', 'leite ou iogurte') e não saudáveis ('batata frita, batata de pacote e salgados fritos', 'hambúrguer e embutidos', 'bolachas, biscoitos salgados ou salgadinhos de pacote', 'bolachas ou biscoitos doces ou recheados, doces, balas e chocolates', 'refrigerante'), para cada um dos grupos de interesse (adolescentes, gestantes adolescentes, gestantes adultas) foram obtidos da plataforma do SISVAN e exportados como planilhas do *Microsoft Excel®*, as quais foram reunidas, compondo um único banco de dados.

Inicialmente, os dados de consumo alimentar coletados foram categorizados em consumo zero (nenhum consumo semanal), consumo esporádico (entre um e quatro dias/semana) e consumo regular (entre cinco e sete dias/semana), considerando-se três grupos independentes, a saber: adolescentes, gestantes adolescentes, gestantes adultas. A seguir, foi realizada análise descritiva dos dados, seguida de análise inferencial. Para comparação das proporções entre os grupos, foi utilizado o teste Qui-quadrado de *Pearson*, adotando-se o nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ). Quando esse teste indicou associação entre as variáveis, foi aplicado o teste de resíduos ajustados, considerando-se estatisticamente significativos, nessas condições, os resíduos  $\geq 1,96$ .

A análise de dados foi realizada com o uso dos programas *Microsoft Excel®* versão 2016 e *Statistical Package for Social Sciences (SPSS®)* versão 22.0.

Considerando que a pesquisa foi realizada com dados secundários de domínio público com acesso irrestrito, ficou dispensada sua apreciação por Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos, conforme recomendação do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2016).

### 3 | RESULTADOS

Os dados coletados foram do consumo dos marcadores alimentares (saudáveis e não saudáveis) de 46.769 mulheres (23.987 adolescentes, 5.575 gestantes adolescentes, 17.207 gestantes adultas), residentes na região Sul do Brasil, referentes ao período de 2008 a 2014 e que estavam disponíveis na plataforma SISVAN em domínio público. Os achados das análises destes dados são apresentados a seguir, segundo os tipos de marcadores alimentares.

#### 3.1 Consumo de marcadores de alimentação saudável

Para os três grupos, o marcador saudável com consumo zero referido por maiores proporções da população foi 'legumes e verduras cozidos'. Já o de menor frequência de consumo zero, com proporções semelhantes nos três grupos populacionais, foi 'feijão'. Para os demais marcadores saudáveis, observou-se uma tendência de maior frequência de consumo zero para o grupo das adolescentes, seguido pelo de gestantes adolescentes e, finalmente, pelo de gestantes adultas (figura 1).

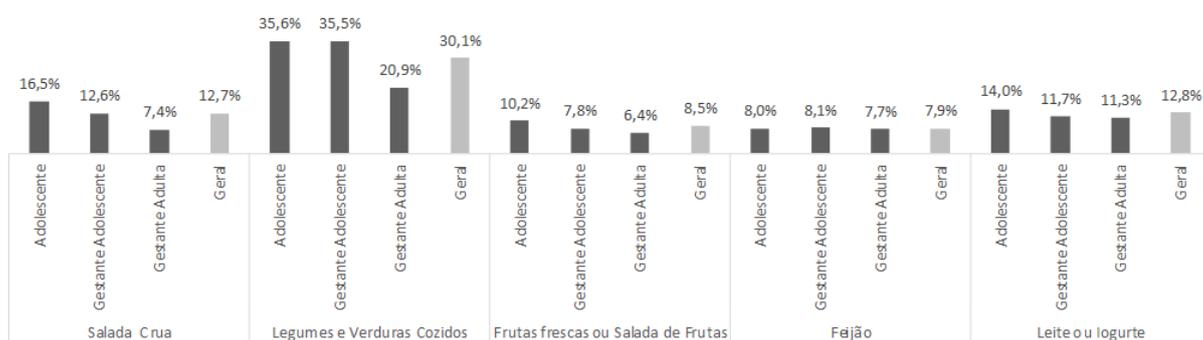


Figura 1. Proporções de adolescentes, gestantes adolescentes e gestantes adultas com consumo semanal zero de marcadores de alimentação saudável, região Sul, Brasil, 2008-2014.

Fonte: elaboração das autoras a partir dos dados da pesquisa, 2017.

Quanto ao consumo regular de marcadores saudáveis, as maiores proporções para os três grupos populacionais foram observadas para 'feijão' e 'leite e iogurte', nesta ordem. Para estes marcadores também foram observadas as menores discrepâncias entre adolescentes, gestantes adolescentes e gestantes adultas. Para os demais marcadores saudáveis, observou-se uma tendência de maior frequência de consumo regular para o grupo das gestantes adultas, seguido pelo de gestantes adolescentes e, finalmente, pelo de adolescentes (figura 2).

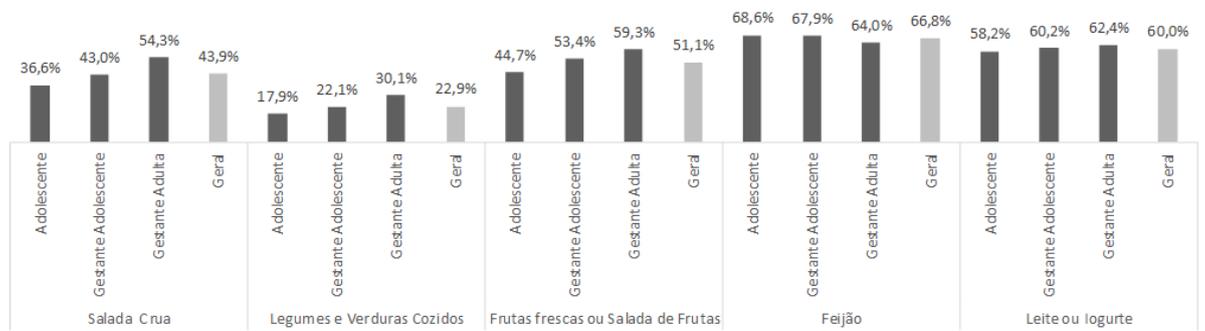


Figura 2. Proporções de adolescentes, gestantes adolescentes e gestantes adultas com consumo regular de marcadores de alimentação saudável, região Sul, Brasil, 2008-2014.

Fonte: elaboração das autoras a partir dos dados da pesquisa, 2017.

Foi constatada forte associação ( $p < 0,001$ ), pelo teste de resíduos ajustados, entre o grupo das adolescentes e o consumo zero de três dos cinco marcadores alimentares saudáveis: 'salada crua', 'legumes e verduras cozidos', 'leite e iogurte'. Este grupo esteve também fortemente associado ao consumo esporádico de 'frutas frescas ou salada de frutas' e ao consumo regular de apenas um marcador saudável, 'feijão' ( $p < 0,001$ ).

Para o grupo das gestantes adolescentes, foi identificada forte associação com consumo zero de um marcador alimentar saudável – 'legumes e verduras cozidos' ( $p < 0,001$ ) – e com consumo regular de outro – 'frutas frescas ou salada de frutas' ( $p < 0,001$ ).

Seguindo uma tendência oposta, observou-se forte associação entre o grupo de gestantes adultas e o consumo regular de quatro dos cinco marcadores alimentares saudáveis: 'salada crua', 'legumes e verduras cozidos', 'frutas frescas ou salada de frutas' e 'leite ou iogurte' ( $p < 0,001$ ). Apenas para o marcador 'feijão' foi observada associação do grupo de gestantes adultas com consumo esporádico ( $p < 0,001$ ).

### 3.2 Consumo de marcadores de alimentação não saudável

Entre adolescentes e gestantes adultas, o marcador não saudável com maior frequência de consumo zero foi 'batata frita, batata de pacote e salgados fritos'. Para as gestantes adolescentes, a maior frequência de consumo zero foi observada para o marcador alimentar 'hambúrguer e embutidos', embora pouco acima daquela constatada para 'batata frita, batata de pacote e salgados fritos'. Para os demais marcadores não saudáveis, observou-se uma tendência de maior frequência de consumo zero para o grupo das gestantes adultas, seguido pelo de gestantes adolescentes e, finalmente, pelo de adolescentes (figura 3).

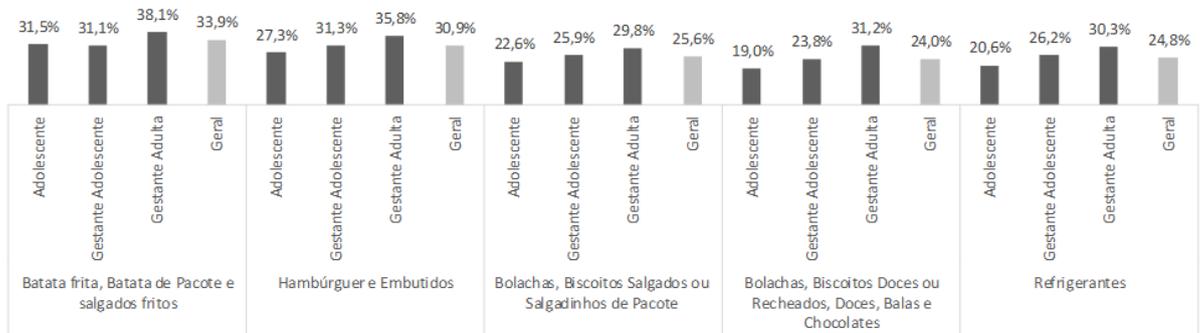


Figura 3. Proporções de adolescentes, gestantes adolescentes e gestantes adultas com consumo semanal zero de marcadores de alimentação não saudável, região Sul, Brasil, 2008-2014.

Fonte: elaboração das autoras a partir dos dados da pesquisa, 2017.

Para o consumo regular de marcadores não saudáveis, as maiores proporções foram identificadas para ‘bolachas, biscoitos doces ou recheados, doces, balas e chocolates’ nos grupos das adolescentes e das gestantes adolescentes. Para as gestantes adultas, a maior frequência de consumo regular foi para o marcador ‘bolachas, biscoitos salgados ou salgadinhos de pacote’. Destaca-se que, exceto para os marcadores ‘batata frita, batata de pacote e salgados fritos’ e ‘refrigerantes’, observou-se uma tendência de maior frequência de consumo regular para o grupo das adolescentes, seguido pelo de gestantes adolescentes e, finalmente, pelo de gestantes adultas (figura 4).

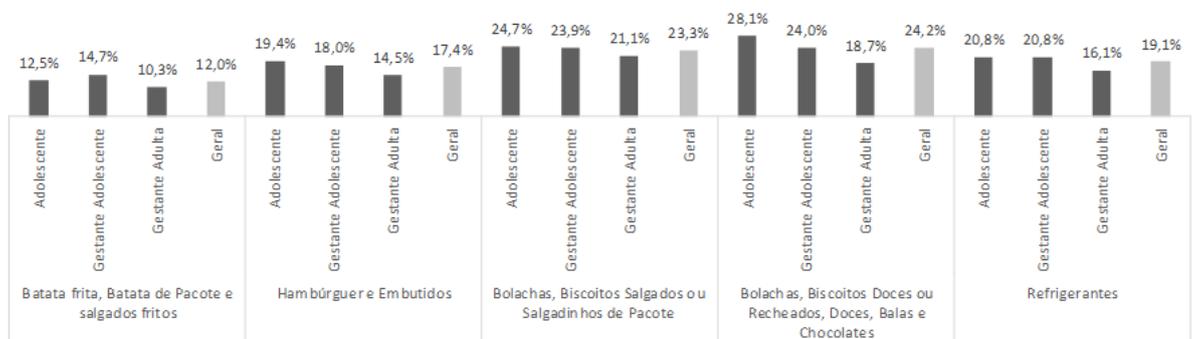


Figura 4. Proporções de adolescentes, gestantes adolescentes e gestantes adultas com consumo regular de marcadores de alimentação não saudável, região Sul, Brasil, 2008-2014.

Fonte: elaboração das autoras a partir dos dados da pesquisa, 2017.

Foi observada forte associação, pelo teste de resíduos ajustados, entre o grupo das adolescentes e o consumo esporádico de ‘batata frita, batata de pacote e salgados fritos’, assim como com o consumo regular de todos os demais marcadores de alimentação não saudável ( $p < 0,001$ ). Já o grupo de gestantes adolescentes esteve fortemente associado ao consumo regular de dois desses marcadores – ‘batata frita, batata de pacote e salgados fritos’ e ‘refrigerantes’ ( $p < 0,001$ ). Por outro lado, o grupo das gestantes adultas esteve associado ao consumo zero de todos os

marcadores alimentares não saudáveis ( $p < 0,001$ ).

## 4 | DISCUSSÃO

A nutrição é fundamental para o prognóstico da gestação, que é influenciado pelo estado nutricional materno pré-gravídico e gestacional, sendo o período da gestação uma fase na qual as necessidades nutricionais estão elevadas em decorrência dos ajustes fisiológicos com vistas ao crescimento fetal. Uma dieta inadequada nesta fase tem grande impacto sobre o crescimento e o desenvolvimento da criança e sobre a saúde do binômio mãe e filho, especialmente em se tratando de gestantes adolescentes, as quais ainda estão em fase de crescimento e apresentam relativa imaturidade biológica neste ciclo de vida (BRASIL, 2012).

Partindo do pressuposto que a alimentação e a nutrição se constituem como determinantes e condicionantes da saúde, considera-se que conhecer o padrão de consumo alimentar é essencial para orientar as ações de atenção integral à saúde, promovendo melhoria do perfil alimentar e nutricional. Portanto, realizar avaliação do consumo alimentar é uma ação estratégica para o cuidado em saúde, principalmente no acompanhamento da gestante adolescente, o que potencializa as demais ações de prevenção e tratamento precoce de comorbidades (COSTA; NEVES, 2013; BRASIL, 2015).

Neste estudo, o padrão alimentar das gestantes adolescentes se configurou pelo consumo zero de 'legumes e verduras cozidos' e pelo consumo regular de 'frutas frescas ou salada de frutas', 'batata frita, batata de pacote e salgados fritos' e 'refrigerantes'. Esses achados corroboram, em parte, os de Bueno, Beserra e Weber (2016), quando os autores, a partir de uma revisão de literatura sobre o tema, apontaram que gestantes adolescentes apresentam insuficiente consumo de frutas, legumes e verduras, e consumo expressivo de alimentos ricos em gorduras, açúcares e energia (como lanches, pizzas, salgados de pacote, biscoitos doces e salgados, margarina, refrigerantes e doces). A aparente divergência reside em que os autores relataram consumo inadequado de frutas e, neste estudo, foi constatado consumo regular desses alimentos. Contudo, há que se considerar que, segundo o instrumento que dá origem aos dados disponíveis na plataforma SISVAN, o consumo é explorado como frequência, em dias por semana, não indicando quantidades consumidas. Assim, o consumo regular identificado no presente estudo (5-7 dias/semana) não implica, necessariamente, consumo suficiente, embora possa, pelo menos, indicar uma disponibilidade para o autocuidado alimentar durante a gestação.

Dessa forma, reforça-se que, predominantemente, gestantes adolescentes apresentam um padrão alimentar composto por alimentos com altas concentrações de carboidratos simples e lipídeos, e baixas quantidades de proteínas e

micronutrientes (COELHO et al., 2015). A esse propósito, os achados do presente estudo confirmam o que foi referido previamente por Moraes, Moraes e Ribeiro (2014), quando os autores constataram que o padrão alimentar de adolescentes grávidas se mostrou impróprio, sendo observado consumo adequado de feijão, enquanto o de frutas, verduras e legumes esteve abaixo do recomendado e o de produtos industrializados foi elevado. Na mesma direção, Sousa et al. (2013) observaram pouca variação no cardápio diário de adolescentes grávidas, o que foi atribuído ao baixo nível educacional e a condições socioeconômicas desfavoráveis.

Tomando-se o padrão de consumo de adolescentes como balizador da análise, constata-se que, em linhas gerais, os achados deste estudo apontam para uma leve superioridade da qualidade do padrão alimentar das gestantes adolescentes em relação àquele das adolescentes, que se caracterizou por consumo zero de três dos marcadores saudáveis – ‘salada crua’, ‘legumes e verduras cozidos’ e ‘leite e iogurte’ –, pelo consumo esporádico de ‘feijão’ e pelo consumo regular de quatro dos marcadores não saudáveis – ‘hambúrguer e embutidos’, ‘bolachas, biscoitos salgados ou salgadinhos de pacote’, ‘bolachas, biscoitos doces ou recheados, doces, balas e chocolates’ e ‘refrigerantes’. Essas constatações corroboram os achados de Souza et al. (2016), que descreveram que a dieta dos adolescentes brasileiros é composta por alimentos tradicionais, como arroz e feijão, em paralelo ao consumo elevado de alimentos ultraprocessados e de bebidas açucaradas, com destaque para a ingestão de refrigerantes. Esse padrão alimentar resulta em baixa ingestão de cálcio, vitaminas A e E e consumo excessivo de ácidos graxos saturados, sódio e açúcar livre (SOUZA et al., 2016). Esse panorama explica a afirmação de que os adolescentes são reconhecidos como o grupo etário com pior perfil de dieta, o que sinaliza para um prognóstico de aumento dos índices de excesso de peso e de doenças crônicas (BRASIL, 2013).

Já no confronto com o padrão alimentar das gestantes adultas, o das gestantes adolescentes apresentou-se em condição de qualidade inferior, visto que a alimentação das primeiras evidenciou estar embasada em consumo regular de quatro marcadores saudáveis – ‘salada crua’, ‘legumes e verduras cozidos’, ‘frutas frescas ou salada de frutas’ e ‘leite e iogurte’ –, consumo esporádico de ‘feijão’ e consumo zero de todos os marcadores não saudáveis. Esses resultados corroboram aqueles reportados por Teixeira e Cabral (2016), que constataram hábitos alimentares adequados, diversificados e ricos em frutas e hortaliças entre gestantes adultas. Apesar disso, outros estudos têm indicado que as práticas alimentares de gestantes adultas também requerem melhorias, e que intervenções em educação alimentar e nutricional devem receber mais espaço na atenção pré-natal, reforçando a importância dos hábitos alimentares na gestação, especialmente porque as gestantes serão responsáveis pela formação dos hábitos alimentares da

criança que está sendo gerada (MELERE et al., 2013; GOMES et al., 2015).

Frente aos achados apresentados, convém reafirmar que vários fatores interferem nas escolhas alimentares dos adolescentes, como a praticidade e o fácil acesso aos produtos industrializados, assim como o *marketing* que incentiva o consumo desses produtos (SILVA et al., 2015) e a influência dos grupos sociais. Por isso, é usual que adolescentes deem preferência a lanches e similares, ricos em açúcares e gorduras, ao invés de consumirem legumes, verduras e frutas (TEO et al., 2014). Logo, é pertinente considerar que a gestação, nesta etapa do curso da vida, representa uma carga adicional de vulnerabilidades à saúde, tanto da adolescente quanto de seu filho. No entanto, também é possível propor que a adoção de uma alimentação saudável seja medida importante na redução dessas vulnerabilidades, além de representar uma ação de promoção da saúde e prevenção de agravos factível, se receber atenção das equipes de saúde que acompanham as adolescentes.

Nesse sentido, cabe destacar que estudos sobre o tema têm apontado que a família tem centralidade na rede de apoio às adolescentes grávidas (SCHWARTZ; VIEIRA; GEIB, 2011; PRATES; SCHMALFUSS; LIPINSKI, 2015; TAGLIETTI; TEO, 2016), enquanto os profissionais de saúde parecem ter um papel ainda bastante restrito como referência para superação das dificuldades enfrentadas por essas jovens no curso da gestação (PRATES; SCHMALFUSS; LIPINSKI, 2015; TAGLIETTI; TEO, 2016). Essas observações indicam a pertinência de que o acompanhamento pré-natal da adolescente assuma uma perspectiva interdisciplinar – envolvendo profissionais de diferentes áreas – e ampliada, alcançando membros do seu convívio social que representem, efetivamente, apoio para que ela faça as escolhas mais saudáveis (FERNANDES; SANTOS JÚNIOR; GUALDA, 2012; PRATES; SCHMALFUSS; LIPINSKI, 2015; TAGLIETTI; TEO, 2016).

A esse respeito, salienta-se que o padrão alimentar das gestantes adolescentes, embora mais saudável do que o das adolescentes, neste estudo, precisa ser qualificado, de forma a suprir a demanda nutricional aumentada que o evento da gestação representa no curso da adolescência. Assim, reafirma-se que os profissionais de saúde têm a responsabilidade de investigar, orientar e conscientizar essas jovens em relação ao consumo regular dos marcadores alimentares saudáveis e redução do consumo dos marcadores não saudáveis. Nessa lógica, a adoção de uma alimentação saudável, pelas gestantes adolescentes, contribui para a prevenção do ganho de peso excessivo, que, na gestação, é reconhecido fator de risco para diabetes gestacional e aumento da pressão arterial, estando, ainda, relacionado ao nascimento prematuro e ao aumento de partos cesáreos (BRASIL, 2012). Além disso, mudanças positivas no padrão alimentar de gestantes adolescentes potencializam seu papel como influenciadoras de seus filhos para

escolhas alimentares saudáveis.

A propósito de síntese, pondera-se que, neste estudo, o perfil de consumo alimentar de gestantes adolescentes apresentou-se em uma condição de transição entre o das adolescentes e o das gestantes adultas. Ou seja, o consumo alimentar das gestantes adolescentes foi mais saudável do que o das adolescentes e menos saudável do que o das gestantes adultas. Sugere-se, a partir desses achados, que a gestação representa um momento na vida da adolescente em que ela se coloca mais disponível para considerar a adoção de escolhas mais saudáveis relativas ao seu estilo de vida. Nesse sentido, cabe às equipes de saúde buscarem mobilizar essa disponibilidade, de forma que os hábitos mais saudáveis possam ser reforçados e perdurem, para além do evento gestacional.

## 5 | CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou que o consumo alimentar das gestantes adolescentes tem características de transição entre o das adolescentes e o das gestantes adultas, o que reforça a importância de que sejam concentrados esforços em ações de educação em saúde que promovam sua melhoria e perenidade. Entre os pontos críticos a serem enfrentados na atenção à saúde a esta população, destaca-se o consumo de marcadores saudáveis em geral, com foco especial no incentivo à ingestão de ‘legumes e verduras cozidos’. Dentre os marcadores não saudáveis, indica-se a necessidade de priorizar a redução do consumo de ‘batata frita, batata de pacote e salgados fritos’ e de ‘refrigerantes’.

Em resposta à problemática que norteou esta pesquisa, propõe-se que é preciso superar eventuais julgamentos ou preconceitos no acompanhamento de gestantes adolescentes, ou, ainda, superar a ideia de que a atenção à saúde dessas jovens possa ser conduzida de forma semelhante à que é dispensada a gestantes adultas. Sugere-se que, nesse caso, frente à constatação de uma melhoria da qualidade do padrão alimentar, trata-se de encarar a condição de ‘estar gestante’ como uma janela de oportunidades para que, com o apoio de familiares e equipes de saúde, as adolescentes possam fortalecer hábitos mais saudáveis de vida e, entre eles, suas práticas alimentares, o que certamente terá repercussões positivas para a sua própria vida e para a de seu filho.

Espera-se, portanto, que os achados apresentados contribuam para o planejamento de um conjunto de estratégias de orientação e manejo de pacientes gestantes adolescentes com vistas a melhorar sua capacidade de resposta à dupla carga de vulnerabilidades que enfrentam: crescimento e desenvolvimento do binômio mãe-filho.

## REFERÊNCIAS

BELARMINO, G. O. et al. Risco nutricional entre gestantes adolescentes. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.22, n. 2, p. 169-75, 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Relatórios Públicos - Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN**. 2008-2014. Disponível em: [http://dabsistemas.saude.gov.br/sistemas/sisvan/relatorios\\_publicos/relatorios.php](http://dabsistemas.saude.gov.br/sistemas/sisvan/relatorios_publicos/relatorios.php). Acesso em: 10 ago. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Protocolos do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN na assistência à saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Cadernos de Atenção Básica, nº 32. **Atenção ao pré-natal de baixo risco**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. p. 73-88.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Orientações básicas de atenção integral à saúde de adolescentes nas escolas e unidades básicas de saúde**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Orientações para avaliação de marcadores de consumo alimentar na atenção básica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde, Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Brasil. **Nascidos vivos no ano de 2013, de mães com idade de 10-14 e 15-19 anos de idade, dos estados da Região Sul do Brasil**. DATASUS: Tecnologia da Informação a Serviço do SUS. 2016. Disponível em <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&id=6936&VObj=http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinasc/cnv/nv>. Acesso em: 09 mar. 2016.

BRITO, A. C. D. et al. Consumo de frutas, verduras e legumes por gestantes adolescentes. **Revista Brasileira de Promoção da Saúde**, v. 29, n. 4, p. 480-489, 2016.

BUENO, A. A.; BESERRA, J. A. S.; WEBER, M. L. Características da alimentação no período gestacional. **LifeStyle Journal**, v. 3, n. 2, p. 29-42, 2016.

COELHO, N. L. P. et al. Padrão do consumo alimentar gestacional e peso ao nascer. **Revista Saúde Pública**, v. 49, n. 62, p. 1-10, 2015.

COSTA, V. T.; NEVES, A. S. Consumo Alimentar de Gestantes Adolescentes: Uma Revisão Sistemática. **Cadernos UniFOA**, ed. especial, mai. 2013.

FERNANDES, A. O.; SANTOS JÚNIOR, H. P. O.; GUALDA, D. M..R. Gravidez na adolescência: percepções das mães de gestantes jovens. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 25, n. 1, p. 28-35, 2012.

GAIO, D. S. M.. Assistência pré-natal e puerpério. In: DUNCAN, B. B et al. **Medicina Ambulatorial: Condutas de Atenção Primária Baseada em Evidências**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p. 357 – 367.

GOMES, C. B. et al. Práticas alimentares de gestantes e mulheres não grávidas: há diferenças? **Revista Brasileira de Ginecologia Obstetrícia**, v. 37, n. 7, p. 299-344, jul. 2015.

MALTA, M. B. et al. Utilização das recomendações de nutrientes para estimar prevalência de consumo insuficiente das vitaminas C e E em gestantes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n. 4, p. 573-583, 2008.

MELERE, C. et al. Índice de alimentação saudável para gestantes: adaptação para uso em gestantes brasileiras. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 1, p. 20-8, fev. 2013.

MORAES, L. P.; MORAES, P. M. O.; RIBEIRO, E. C. D. Perfil epidemiológico e nutricional de adolescentes grávidas e internadas em um hospital de referência do Pará. **Revista Paraense de Medicina**, v. 28, n.4, p. 49-56, 2014.

OPAS. UNFPA. UNICEF. **Acelerar el progreso hacia la reducción del embarazo en la adolescencia en América Latina y el Caribe**. Informe de consulta técnica (29-30 agosto 2016, Washington, D.C., EE. UU.). Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud: Fondo de Población de las Naciones Unidas: Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia, 2018.

PESSOA, L. S. et al. Evolução temporal da prevalência de anemia em adolescentes grávidas de uma maternidade pública do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 37, n.5, p. 208-215, 2015.

PRATES, L. A.; SCHMALFUSS, J. M.; LIPINSKI, J. M. Rede de apoio social de puérperas na prática da amamentação. **Escola de Enfermagem Anna Nery**, v.19, n. 2, p.310-315, 2015.

SCHWARTZ, T.; VIEIRA, R.; GEIB, L. T. C. Apoio social a gestantes adolescentes: desvelando percepções. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 16, n. 5, p. 2575-2585, 2011.

SILVA, D. C. A. et al. Percepção de adolescentes sobre a prática de alimentação saudável. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 20, n.11, p. 3299-3308, 2015.

SOUSA, E. L. et al. Hábitos alimentares: conhecimento de adolescentes grávidas atendidas na atenção básica. **Revista de Pesquisa: cuidado é fundamental**, v. 5, n. 4, p. 661-670, 2013.

SOUZA, A. et al. ERICA: ingestão de macro e micronutrientes em adolescentes brasileiros. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, n. 1, p. 1-15, 2016.

TAGLIETTI, R. L.; TEO, C. R. P. A. Rede de apoio no cuidado alimentar da criança e o protagonismo da mãe adolescente. **Perspectiva**, v. 40, n.149, p. 107-119, 2016.

TEIXEIRA, C. S. S.; CABRAL, A. C. V. Avaliação nutricional de gestantes sob acompanhamento em serviços de pré-natal distintos: a região metropolitana e o ambiente rural. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 38, n. 1, p. 27-34, 2016.

TEO, C. R. P. A. et al. Atitude e prática no consumo de frutas e hortaliças entre adolescentes em vulnerabilidade social. **Scientia Medica**, v. 24, n. 3, p. 237-244, 2014.

WHO, World Health Organization. **Young People's Health: a Challenge for Society**. Report of a WHO Study Group on Young People and Health for All. Technical Report Series 731. Geneva, 1986.

## AVALIAÇÃO DE ESPIRITUALIDADE E RELIGIOSIDADE EM ESTUDANTES DE MEDICINA DURANTE VIVÊNCIA DE CUIDADOS PALIATIVOS

Data de aceite: 19/11/2018

### Anderson Acioli Soares

Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), Grupo de Cuidados Paliativos, Recife (PE), Brasil.

### Alberto Gorayeb de Carvalho Ferreira

Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), Grupo de Cuidados Paliativos, Recife (PE), Brasil.

### Suzana Lins da Silva

Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), Grupo de estudos em saúde integral, Recife (PE), Brasil.

### Mirella Rebello Bezerra

Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), Grupo de Cuidados Paliativos, Recife (PE), Brasil.

### Maria de Fátima Costa Caminha

Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), Grupo de estudos em saúde integral, Recife (PE), Brasil.

**RESUMO:** Avaliar os entendimentos de religiosidade e espiritualidade em estudantes de medicina durante vivência em cuidados paliativos e verificar sua contribuição para prática profissional. **Método:** Estudo transversal com intervenção pedagógica (durante estágio curricular em serviço de cuidados paliativos de

um hospital de Pernambuco, Brasil). Os dados foram coletados entre junho de 2015 a agosto de 2016, em dois momentos distintos (primeiro e último dia do estágio clínico). Utilizou-se instrumento com perguntas sobre concepções de religiosidade e espiritualidade e aplicou-se a Escala de Durel para identificar dimensões da religiosidade. A comparação do antes e depois foi realizada através do Teste Marginal homogene (Stuart-Maxwell). **Resultados:** Avaliaram-se 123 estudantes, sem exclusões. As características da prática clínica em espiritualidade “concordância com influência da espiritualidade na saúde”, “sentir-se seguro para abordagem”, “influência positiva ou negativa” e “motivos para desencorajamento” diferiram ao término do estágio ( $p < 0,05$ ). Quanto a religiosidade individual, 53% autodenominaram-se como católico apostólico romano. As dimensões religiosas “organizacional” e “intrínseca: esforço para viver a religiosidade na vida” diferiram ao término do estágio ( $p < 0,05$ ). Houve predomínio na indicação de uma disciplina obrigatória de espiritualidade. **Conclusão:** Respeitando-se as características religiosas individuais de cada estudante, existe oportunidade para desenvolver atitudes em prol do acolhimento das angústias espirituais dos pacientes, salientando que a vivência em

cuidados paliativos gerou capacitações nos indivíduos envolvidos para atender estes anseios.

**PALAVRAS-CHAVE:** espiritualidade, educação médica, cuidados paliativos, estágio clínico.

**ABSTRACT:** To evaluate the understanding of religiosity and spirituality among medical students during their experience in palliative care and to verify their contribution to professional practice. Method: Cross-sectional study with pedagogical intervention (during a curricular course in the palliative care service of a hospital in Pernambuco, Brazil). Data were collected between June 2015 and August 2016, at two distinct times (first and last day of the clinical stage). An instrument was used with questions about conceptions of religiosity and spirituality and the Durel Scale was applied to identify dimensions of religiosity. The before and after comparison was performed through the Homogeneous Marginal Test (Stuart-Maxwell). Results: A total of 123 students were evaluated, with no exclusions. The characteristics of clinical practice in spirituality “agreement with the influence of spirituality on health”, “feel safe to approach”, “positive or negative influence” and “reasons for discouragement” differed at the end of the stage ( $p < 0.05$ ). As for individual religiosity, 53% self-styled themselves as Roman Catholic apostolic. The religious dimensions “organizational” and “intrinsic: effort to live the religiosity in life” differed at the end of the stage ( $p < 0.05$ ). There was a predominance of an obligatory discipline of spirituality. Conclusion: Respecting the individual religious characteristics of each student, there is an opportunity to develop attitudes towards the reception of patients’ spiritual anxieties, emphasizing that the experience in palliative care has generated capacities in the individuals involved to attend to these anxieties.

**KEYWORDS:** spirituality, medical education, palliative care, clinical stage

## 1 | INTRODUÇÃO

Indicando um caminho para a superação do modelo biomédico de saúde centrado no aspecto físico do adoecer, inbuído de concepções mecanicistas do corpo e de suas funções (1), na década de 90 foi publicada uma Resolução na Emenda da Constituição da Organização Mundial da Saúde (OMS) que propôs incluir o âmbito espiritual no conceito multidisciplinar de saúde que agrega, ainda, aspectos físicos, psíquicos e sociais (2). Tal perspectiva é também abordada na Política Nacional de Humanização que, pautada no princípio da integralidade do atendimento ao usuário, leva em consideração as diferentes dimensões do processo saúde-doença, mostrando que produção de saúde está sempre associada à produção de subjetividade (3). Neste sentido, a espiritualidade, ao representar uma das dimensões da subjetividade humana, precisa encontrar o seu lugar no atendimento humanizado (1), pois, considerando que os estados de doença

provocam uma ruptura nos aspectos biológicos, psicológicos, sociais e espirituais dos pacientes, as ações de cura devem atender a todos esses fatores (4).

Em consequente, instituições de influência no cenário da saúde mundial, como a *Association of American Medical Colleges* e o *National Institute for Health Care Research*, recomendam incluir a espiritualidade nas diretrizes de educação e formação em saúde (5).

Dados demonstram que em 1992 apenas 2% das escolas de medicina dos Estados Unidos ofereciam atividades relacionadas à espiritualidade. No ano de 2007, cursos de medicina americanos já contemplavam alguma atividade relativa à espiritualidade, seja de forma extracurricular ou, em sua maioria, como parte do programa regular da graduação (6). Já no Brasil entidades relacionadas ao estudo da espiritualidade associadas a universidades brasileiras, coordenam pesquisas com o objetivo de avaliar a opinião de estudantes de medicina nas escolas médicas brasileiras sobre o tema (7).

Nesse sentido, para que se possa dar uma resposta de qualidade ao nível da prestação de cuidados, importa que os estudantes de medicina reflitam e tenham uma percepção da sua própria espiritualidade para que, desta forma, consigam identificar ou estar despertos para as necessidades espirituais e religiosas de quem cuidam. Tendo em vista tais evidências destacadas pela literatura especializada e a escassez de publicações nesta temática, percebe-se a necessidade de melhor compreender as concepções de estudantes de medicina sobre o binômio espiritualidade e religiosidade ao vivenciar a prática em saúde, bem como a abordagem dessa temática com os pacientes em atendimento (7, 8).

No contexto dos cuidados paliativos, a atenção aos aspectos espirituais tem tanta relevância que é colocada como um dos maiores indicadores de boa assistência à pessoa no fim da vida (8, 9). A vivência acadêmica neste cenário acaba por favorecer ao estudante de medicina o rompimento do modelo biomédico da saúde por consistir em uma assistência a indivíduos em que a cura física não é a única prioridade da assistência. Nesse caso, o objetivo dos cuidados prestados pela equipe consiste em melhorar a qualidade de vida da pessoa e seus familiares por meio da adequada avaliação e tratamento para alívio da dor e dos sintomas estressantes, além de proporcionar suporte psicossocial e espiritual (8). Nesta ambiência, questões como dor, morte e sofrimento devem ser trabalhadas com muito tato pelos estudantes e profissionais da saúde, pois não cabe buscar “desmontar” os credos pessoais, já que elas cumprem um importante papel regulador em etapas estressantes da vida. É importante buscar alternativas em que, ao se respeitar o sistema de crenças de cada um, busque-se também favorecer a capacitação, leveza terapêutica e o acolhimento (10, 11).

Neste contexto, o presente estudo buscou avaliar os entendimentos de

espiritualidade e religiosidade em estudantes do curso de medicina durante vivência em cuidados paliativos na tentativa de gerar reflexões sobre integração destas temáticas nas graduações de saúde e na formação de profissionais aptos para promover uma assistência integral, plural e interdisciplinar.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo transversal e descritivo com componente de intervenção pedagógica (estágio curricular dos estudantes de medicina em serviço de cuidados paliativos), em que foram avaliadas as concepções religiosas e espirituais no início e término do estágio curricular supra-citado. Tal serviço é integrante do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), um complexo hospitalar de caráter filantrópico localizado na cidade do Recife (PE) que é credenciado pelo Ministério da Saúde e conta com intercâmbio e parceria técnico-científica de organizações nacionais e internacionais para desenvolver suas atividades de ensino, pesquisa, extensão comunitária e assistência. O Serviço de Assistência em Cuidados Paliativos, engloba a enfermagem, assistência domiciliar e ambulatorial, prestando cerca de 3.000 atendimentos por ano e é cenário de campo de estágio obrigatório para estudantes de graduação e pós-graduação. A coleta dos dados foi realizada em junho de 2015 e agosto de 2016.

A amostra ocorreu conveniência (não probabilística), sendo elegíveis os estudantes de medicina matriculados no quinto ano do curso médico de uma faculdade privada do Recife e que vivenciaram o estágio curricular obrigatório (internato) em cuidados paliativos.

As concepções religiosas e espirituais foram avaliadas no início e término do estágio por formulários adaptados de estudo envolvendo acadêmicos de medicina de diversas instituições de ensino superior do Brasil, coordenado pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) em Minas Gerais e pela Associação Médico-Espírita do Brasil (AME-Brasil) (7,12), também já utilizado em semelhante pesquisa capitaneada pela Sociedade Científica de Saúde e Espiritualidade (SOCISE) da Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA), no interior de São Paulo, desta vez envolvendo estudantes do curso de graduação em Enfermagem (13), e a escala de religiosidade de Duke (14).

A escala de religiosidade de Duke é uma medida de cinco itens de envolvimento religioso, desenvolvida para uso em estudos transversais e estudos longitudinais observacionais. O instrumento, publicado em 1997, avalia os três principais domínios da religiosidade humana que foram identificadas durante uma reunião do Instituto Nacional de Envelhecimento dos Estados Unidos. Essas três dimensões são a atividade religiosa organizacional, não-organizacional e a religiosidade intrínseca.

Esta escala tem confiabilidade teste-reteste (intra-classe de correlação = 0,91), consistência interna (Cronbach = 0,78-0,91), de validade convergente com outras medidas de religiosidade ( $r = 0,71 - 0,86$ ), e sua estrutura fatorial já foi demonstrada e confirmada em amostras separadas por outras equipes de investigação (14).

Durante o primeiro dia dos estudantes no serviço, os pesquisadores os convidaram a participar da pesquisa através da leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A seguir foram entregues os formulários com as variáveis de interesse. A duração do estágio foi de 15 dias e no final do rodízio, os mesmos estudantes preenchiam um segundo formulário que continham as mesmas perguntas do primeiro e a escala de DUREL. Em média, cada grupo era formado por oito a nove acadêmicos, sujeitos a oito horas diárias no serviço. Durante o turno da manhã os estudantes atendiam pacientes internados (quatorze leitos) na enfermaria de cuidados paliativos, a maioria deles em finitude, acompanhados de uma visita clínica de preceptores especialistas nessa área, além de discussões de conteúdos importantes sobre o tema. Já no turno da tarde os graduandos eram divididos entre a permanência na enfermaria (onde se mantinham para assistir demandas eventuais), o ambulatório de cuidados paliativos e as visitas domiciliares. Os mesmos alunos ainda se randomizavam para realizar as evoluções dos pacientes do serviço aos finais de semana na enfermaria juntamente com residentes médicos e preceptores.

As variáveis de análise foram características: sociodemográficas, da formação universitária em temas sobre espiritualidade e religiosidade, da prática clínica em espiritualidade, da religião, das concepções de transcendência e imortalidade; e das contribuições do rodízio em Cuidados Paliativos sobre espiritualidade e religiosidade.

Em termos de definição, foi considerado:

**Espiritualidade:** busca pessoal para entender questões relacionadas ao fim da vida, ao seu sentido, sobre as relações com o sagrado ou transcendente que, pode ou não, levar ao desenvolvimento de práticas religiosas ou formação de comunidades religiosas (6);

**Religiosidade:** prática institucionalizada de um sistema de crenças, rituais e símbolos, compartilhada por uma comunidade (11);

**Transcendência:** existência de realidade diferente a nível qualitativo e independente do mundo natural e da consciência humana (11); e

**Imortalidade:** viver após a morte como uma forma espiritual durante um comprimento infinito de tempo (8).

Os domínios da escala de DUREL foram categorizados em: frequência que o sujeito vai a uma igreja, templo ou outro encontro religioso (sim e não), frequência que dedica o tempo a atividades religiosas individuais (mais de uma vez ao dia, diariamente, duas ou mais vezes por semana, uma vez por semana, poucas vezes por mês e raramente ou nunca), sentimento de presença de Deus (sim e não),

crenças religiosas na maneira de viver (sim e não), esforço para viver a religião nos aspectos da vida (sim e não).

Os dados foram digitados no *Excel* com dupla entrada e validados no Epi Info 3.5.2. A análise será realizada no Stata 12.1. As variáveis categóricas se apresentam em números absolutos e relativos. A comparação do início e término dos dados categóricos foi realizada através do teste de homogeneidade marginal (Stuart-Maxwell), considerando como significativa o valor  $p < 0,05\%$ .

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa abordando Seres Humanos do IMIP, CAEE: 43892115.6.00005201.

### 3 | RESULTADOS

Durante o período do estudo foram avaliados 123 estudantes de medicina. Não houve exclusão, e todos os estudantes foram avaliados no início e no final do rodízio no serviço de cuidados paliativos. Houve predomínio do sexo feminino (54,5%), idade superior ou igual a 25 anos (50,4%) e etnia branca (64,2%). A maioria dos estudantes encontrava-se na classe social B2 (44,7%) e a minoria na classe A (2,4%).

As tabelas dos resultados seguintes encontram-se em “anexos”.

Na **Tabela 1** estão apresentadas as comparações dos estudantes de medicina quanto às características da formação universitária em temas sobre espiritualidade e religiosidade antes e após o estágio em cuidados paliativos. Dentre as seis variáveis estudadas, três delas foram estatisticamente significantes: participação em capacitação sobre o tema ( $p = 0,0005$ ), opinião da presença do tema na grade curricular ( $p = 0,0120$ ) e opinião sobre a forma de abordagem curricular do tema ( $p = 0,0171$ ).

Na **Tabela 2** estão apresentadas as comparações dos estudantes de medicina quanto às características do estágio clínico em espiritualidade antes e após o rodízio em cuidados paliativos. Dentre as sete variáveis estudadas, duas delas foram estatisticamente significantes: entendimento da influência da espiritualidade na saúde ( $p < 0,0001$ ) e sentir-se a vontade para uma abordagem espiritual ( $p < 0,0001$ ).

Os estudantes de medicina foram, ainda, comparados quanto às características de religiosidade individual antes e após o rodízio em cuidados paliativos. Dentre as duas variáveis estudadas, nenhuma delas estabeleceu significância estatística. Uma delas se refere a afiliação religiosa que pareceu diferir no questionário final em 10 estudantes, onde ao final verificou-se a seguinte prevalência: 53% referiu ser católico apostólico romano, 29% como não possuindo religião mas possui crença em Deus e 17% se auto referiu como evangélico/protestante.

A segunda variável questionou a auto percepção religiosa do estudante,

descrita na **Tabela 3**. Já na **Tabela 4** estão apresentadas as comparações dos estudantes de medicina quanto às dimensões da prática religiosa aferida pela escala de religiosidade de Duke, antes e após o rodízio em cuidados paliativos.

A **Tabela 5** apresenta as comparações dos estudantes de medicina quanto as características das concepções de transcendência e imortalidade, antes e após o rodízio em cuidados paliativos. Dentre as três variáveis estudadas, nenhuma delas apresentou-se estatisticamente significativa. Na **Tabela 6** estão descritas as características das contribuições apresentadas pelos estudantes de medicina após o rodízio em cuidados paliativos.

#### 4 | DISCUSSÃO

Em tempos contemporâneos, a espiritualidade anteriormente considerada apenas em âmbito religioso, trás consigo novos entendimentos e campo amplo para o estudo de seus benefícios. Sua participação dentro do paradigma saúde-doença vem sendo fomentada e ganhando visibilidade quando incluída como pertencente a um contexto integral da saúde humana (1, 2).

Diante de tais evidências, destaca-se tanto a participação da academia, quanto dos serviços de saúde, na aproximação deste campo do desenvolvimento humano (12).

Este estudo aponta para mudanças na formação profissional do médico em sua prática de abordagem e acolhimento do ser humano, principalmente em seu processo de finitude. Tais circunstâncias parecem ter gerado um processo de reflexão e de empatia para com as demandas espirituais de pacientes, tão comuns neste período.

Aponta-se aqui uma população de estudantes no final do curso de medicina, onde comumente vivem momentos de intenso aprendizado, com conflitos sobre o seu futuro na carreira que podem representar alguma barreira para o atendimento humanizado (7, 9). A maioria deles encontrava-se na classe social B2, demonstrando um perfil de estudantes ainda comum para faculdades privadas no Brasil.

No tópico onde os estudantes são questionados sobre a contemplação do tema espiritualidade e religiosidade em sua formação universitária, percebeu-se uma mudança nos entendimentos iniciais, o que indica algum nível de inclusão destes temas na vivência do serviço. Dentre as variáveis estudadas, três delas apresentaram significância estatística: “participação em capacitação sobre o tema”, “opinião da presença do tema na grade curricular” e “forma de abordagem curricular do tema”.

A mudança das respostas se deu no sentido de maior contemplação do conteúdo espiritual durante a formação, sugerindo a provável abordagem deste

tema no serviço de cuidados paliativos.

As equipes multiprofissionais de cuidados paliativos têm como atitude – e isso não difere do serviço em questão – a abordagem de temáticas com o caráter humanístico para oferecer a melhor assistência. Nesse sentido, utilizam-se da espiritualidade na prestação de cuidados em saúde, influenciando positivamente o bem-estar das pessoas e permitindo aos profissionais abordar o sujeito em suas diferentes dimensões (15).

A experiência parece ter gerado, em grande parte dos estudantes, uma vivência suficiente para que suas opiniões quanto a presença das questões espirituais em grade curricular evoluíssem para uma sugestão de disciplina obrigatória.

Situação esta já debatida mundialmente e recomendada pelo Artigo 29 das Diretrizes Nacionais do Curso de Graduação em Medicina (16) onde salienta que a estrutura do Curso de Graduação em Medicina deve incluir as dimensões ética e humanística, desenvolvendo no aluno atitudes e valores orientados para a cidadania ativa multicultural e para os direitos humanos e promover a integração e a interdisciplinaridade com as dimensões biológicas, psicológicas, étnico-raciais, socioeconômicas, culturais, ambientais e educacionais.

Em seguida, o questionário aplicado levantou dados sobre a prática clínica em espiritualidade que os estudantes realizam durante seus atendimentos. Demonstrou-se que dentre as sete variáveis estudadas, duas delas foram estatisticamente significativas: “concordância com a influência da espiritualidade na saúde” e “sentir-se a seguro para uma abordagem espiritual”.

As concepções sobre a espiritualidade também apresentaram mudança de padrão. Os estudantes apresentaram entendimentos diferentes sobre esse contexto e existiram variações ao término do estágio. Isto sugere diferenças culturais e de tradições religiosas, que cada um deles possui e que os norteiam, tanto em seus conceitos espirituais, como também na maneira de cuidar do paciente. Essas idéias ganham evidência ao se observar estudos que abordam temáticas como tanatologia, aspectos éticos e a própria espiritualidade em que, comumente, aglutinam-se os conceitos (9, 17).

Fatores ainda levantados na pesquisa mostraram que a maioria dos estudantes ao fim do estágio, apresentaram concordância com a influência da espiritualidade na saúde global e também se tornaram mais seguros quanto a abordagem para as demandas espirituais dos pacientes, indicadores estatisticamente significativos. Dados estes que coadunam com importantes estudos realizados recentemente (18) com base estrutural em capacitações e “workshops” sobre espiritualidade para estudantes da área de saúde. Os mesmos demonstraram melhor capacidade dos estudantes em lidar com demandas espirituais e religiosas dos pacientes não gerando angústia ou estresse emocional para estes graduandos (19).

Manteve-se a conformidade com a principal resposta levantada no ítem “desencorajamento”, que durante o início do estudo havia uma indicação expressiva da resposta “falta de treinamento” como principal motivo desmotivacional para o atendimento de conteúdos espirituais (39,3% dos indivíduos) e, ao fim da vivência houve queda deste número para 23,7% deles.

Os graduandos de medicina foram, ainda, comparados quanto à sua religiosidade. Apresentaram como maior prevalência de características religiosas as doutrinas católica apostólica romana e protestante. Um percentual importante (29%) ainda referiu não seguir religião, mas acreditar em Deus.

Entretanto, mesmo existindo aqueles que referiram não participar de doutrinas religiosas, os mesmos indicaram possuir algum nível de religiosidade dentro da vivência do estágio (86,1%) o que parece não ter se alterado ao fim do mesmo. Fato este que mantém correlação com o perfil religioso e multi-cultural brasileiro onde é comum indivíduos, munidos de uma prática sincretista, se autodenominarem religiosos sem vivenciar uma prática religiosa formal específica, mas manterem crenças ligadas a estas (20).

Portanto, durante a aplicação da escala de religiosidade de Duke (14), a maioria dos estudantes referiu ir ao templo (ou igreja) pelo menos uma vez ao ano, salientando que mesmo em circunstâncias de menor frequência, mantinham contato com as práticas religiosas organizacionais.

Duke, em seu trabalho publicado em 1997 discutiu sobre a influência da religiosidade na saúde mental (fato que ganhou evidências em outros campos da saúde humana com pesquisas subsequentes) e, portanto, reforça a atitude dos indivíduos estudados como um movimento emocional comum para a preservação de suas integridades emocionais e postura resiliente diante da vida (17).

Mesmo as características não-organizacionais e intrínsecas da escala de Durel parecem não ter sofrido modificações expressivas com o estágio, sugerindo que as principais alterações ressaltaram mudanças em práticas espirituais no atendimento em saúde e não nas atitudes religiosas individuais já existentes.

Dado semelhante foi identificado quando em interrogatório seguinte (que abordou temas de conteúdo religioso como crença em espíritos e reencarnação) onde não existiu alteração significativa perante o estágio na maioria dos graduandos, reforçando que os conceitos espirituais levantados em vivência com pacientes em cuidados paliativos não trouxeram mudança em seu credo.

Todavia, salienta-se a prática espiritual em saúde como uma habilidade a ser desenvolvida independente da postura religiosa do estudante. Situação levantada em estudos a nível mundial onde o respeito religioso deve ser fomentado, porém o estímulo ao acolhimento humanístico e sua interface com os aspectos espirituais necessitam ser bem conduzidos para uma prática integrativa (18). Situação esta

que fomenta a inclusão das práticas de espiritualidade na medicina moderna como indicador de qualidade de assistência em saúde (21).

O último interrogatório aplicado apenas ao término do estágio abordou as contribuições que o rodízio de cuidados paliativos pode gerar em práticas futuras, já como profissionais. Percebeu-se que a maioria dos estudantes considera que a experiência em cuidados paliativos contribui com suas crenças religiosas prévias (84,5%) e considera que este aprendizado pode ser reproduzido em práticas futuras.

Evidenciou-se ainda que esta vivência com pessoas em assistência paliativa trouxe maior interesse religioso/espiritual e maior assiduidade por parte dos estudantes em práticas espirituais em saúde. Indicador que pode ser interpretado como um fator educador positivo para o estabelecimento de uma prática profissional que englobe o cuidado das demandas espirituais dos pacientes, principalmente aqueles em processo de finitude, onde estas questões se manifestam com maior importância e necessitam de devida condução (8, 22).

## REFERÊNCIAS

1. Alves JS, Junges JR, López LC. A dimensão religiosa dos usuários da praticado atendimento à saúde: percepção dos profissionais de saúde. *O Mundo da Saúde*. 2010;34: 430-436.
2. Organização Mundial de Saúde. Amendments to the Constitution.1999. Disponível em: <http://www.who.int/palliativecare/en/>. Acessado em julho de 2017.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Núcleo Técnico de Política Nacional de Humanização. Clínica ampliada, equipe de referência e projeto terapêutico singular / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Núcleo Técnico da Política Nacional de Humanização. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. Disponível em [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/clinica\\_ampliada\\_equipe\\_referencia\\_2ed\\_2008.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/clinica_ampliada_equipe_referencia_2ed_2008.pdf). Acessado em julho de 2017.
4. Sulmasy DB. A biopsychosocial-spiritual model for the care of patients at the end of life. *The gerontologist*. 2002;76:1189-91.
5. D'Souza R. The importance of spirituality in medicine and its application to clinical practice. *Med J Aust* [periodico da internet]. 2007 [acesso em 31 de julho de 2014]; 186(10) 57-9. Disponível em [http://www.mja.com.au/public/issues/186\\_10\\_210507/dso11102\\_fm.html](http://www.mja.com.au/public/issues/186_10_210507/dso11102_fm.html)
6. Anandarajah G, Mitchell SM. A spiritualityand medicine elective for senior medical students: 4years'experience, evaluation, and expansion to the family medicine residency. *FamMed*. 2007; 39:313-315.
7. Borges DC, Anjos GL, Oliveira LR, Leite JR, Lucchetti G. Saúde, espiritualidade e religiosidade na visão de estudantes de medicina. *Rev Bras Clin Med*. São Paulo, 2013;11:6-11
8. Williams AL. Perspectives on spirituality at the end of life: a meta-summary. *Palliative and Supportive Care* 2006; 4:407–17.
9. Eizirik et al. O médico, o estudante de medicina e a morte. *Artigos especiais - Revista AMRIGS* 2000; 44:50-55.

10. Culliford L. Spirituality and clinical care. *BMJ*. 2002;325:1434-5
11. Hoffman FS, Muller MC, Frasson AL. Repercussões psicossociais, apoio social e bem-estar espiritual em mulheres com câncer de mama. *Psicologia Saúde & Doenças*, 2006;7:239-254.
12. Mariotti LG, Lucchetti G, Dantas MF, et al. Spirituality and medicine: views and opinions of teachers in a Brazilian medical school. *MedTeach*. 2011;33:339-40.
13. Cervelin AF, Kruse MHL. Espiritualidade e religiosidade nos cuidados paliativos: conhecer para governar. *Esc Anna Nery* 2014;18:136-142.
14. Taunay TCD, Gondim FAAG, Macêdo DS, Moreira-Almeida A, Gurgel LA, Andrade LMS, Carvalho AF. Validação da versão brasileira da escala de religiosidade de Duke (DUREL). *Rev. Psiq. Clín.* 2012; 39:130-5.
15. Arriera ICO, Thofehr MB, Porto AR, Palma JS. Espiritualidade na equipe interdisciplinar que atua em cuidados paliativos às pessoas com câncer. *Cienc Cuid Saude* 2011;10:314-321
16. Ministério da educação, Conselho Nacional de educação câmara de educação superior. Resolução N° 3. Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Medicina e dá outras providências. 2014. Disponível em: <http://www.fmb.unesp.br/Home/Graduacao/resolucao-dcn-2014.pdf>. Acessado em julho de 2017.
17. Lucchetti G, Lucchetti AG, Badan-Neto AM, et al. Religiousness affects mental health, pain and quality of life in older people in an out patient rehabilitation setting. *J Rehabil Med*. 2011;43:316-22.
18. Yilmaz M, Gurler H. 2014. The efficacy of integrating spirituality into under graduate nursing curricula. *Nurs Ethics*. 21:929–945
19. Neely D, Minford NE. Current status of teaching on spirituality in UK medical schools. *Medical education*. 2008; 42: 176-182
20. Andrade, MO. A Religiosidade Brasileira: o pluralismo religioso, a diversidade de crenças e o processo sincrético. *Revista Eletrônica de Ciências Sociais*. 2009;14;106-118
21. VanderWeele TJ; Balboni TA, Koh HK. Health and Spirituality. *JAMA*. 2017; 318:519-520
22. Filho JCG, Beraldi GH, Nunes MPT, Gannam S. O ensino da espiritualidade nos cursos de medicina no Brasil e no mundo. Disponível em [http://pedagogiaespirita.org.br/tiki-download\\_file.php?field=152](http://pedagogiaespirita.org.br/tiki-download_file.php?field=152). Acessado em julho de 2017.

## ANEXOS

Variáveis	Amostra n = 123	Início n (%)	Término n (%)	Valor p
<b>Participação em capacitação sobre o tema</b>				<b>0,0005</b>
Nunca		69 (56,1)	48 (39,0)	
Raramente		31 (25,2)	39 (31,7)	
Algumas vezes		21 (17,1)	34 (27,6)	
Comumente		2 (1,6)	2 (1,6)	
Sempre				
<b>Foi oferecida abordagem curricular sobre o tema</b>				<b>0.9028</b>
Nunca		3 (2,4)	2 (1,6)	
Raramente		40 (32,5)	41 (33,3)	

Algumas vezes	68 (55,3)	71 (57,7)	
Comumente	11 (1,6)	2 (8,9)	
Sempre	1 (0,8)	1 (0,8)	
<b>Recebeu informações suficientes sobre o tema</b>			<b>0,8461</b>
Nunca	7 (5,7)	11 (8,9)	
Raramente	64 (52)	61 (49,6)	
Algumas vezes	35 (28,5)	35 (28,4)	
Comumente	13 (10,5)	12 (9,7)	
Sempre	4 (3,3)	4 (3,3)	
<b>Opinião do preparo na graduação sobre o tema</b>			<b>0,0795</b>
Nunca	1 (0,8)	0 (0,0)	
Raramente	3 (2,4)	0 (0,0)	
Algumas vezes	16 (13)	13 (10,6)	
Comumente	37 (30)	32 (26)	
Sempre	66 (53,6)	78 (63,4)	
<b>Opinião da presença do tema na grade curricular</b>			<b>0,0120</b>
Nunca	0 (0,0)	0 (0,0)	
Raramente	10 (8,1)	3 (2,4)	
Algumas vezes	25 (2,3)	18 (14,6)	
Comumente	27 (21,9)	28 (2,8)	
Sempre	61 (49,6)	74 (60,2)	
<b>Opinião sobre a forma de abordagem curricular do tema</b>			<b>0,0171</b>
Disciplina obrigatória	27 (21,9)	43 (35)	
Disciplina optativa	21 (17,0)	14 (11,4)	
Dentro das disciplinas	55 (44,7)	49 (39,8)	
Através de cursos	20 (16,26)	17 (13,8)	

Tabela 1. Comparação dos estudantes de medicina quanto as características da formação universitária em temas sobre espiritualidade e religiosidade no início e término de rodízio em cuidados paliativos em hospital do estado de Pernambuco, Brasil, 2016.

Variáveis	Amostra n = 123	Início n (%)	Término n (%)	Valor p
<b>Entendimento sobre espiritualidade</b>				<b>0,0677</b>
Postura ética		14 (11,3)	13 (10,6)	
Busca de significado		24 (19,5)	34 (27,6)	
Crença em Deus		33 (26,8)	24 (19,5)	
Crença no transcendente		39 (31,7)	45 (36,6)	
Crença na vida após a morte		13 (10,6)	7 (5,6)	
<b>Concorda com influência da espiritualidade na saúde</b>				<b>&lt; 0,0001</b>
Sim		99 (80,4)	115 (93,0)	
Não		24 (19,6)	8 (7,0)	
<b>Influência positiva ou negativa</b>				<b>0,0173</b>
Geralmente positivo		96 (78)	107 (87)	
Geralmente negativo		1 (0,8)	0 (0,0)	
Positiva		26 (21,1)	16 (13)	
Não tem influência		0 (0,0)	0 (0,0)	
<b>Sentir-se seguros para abordagem</b>				<b>&lt; 0,0001</b>
Sim		75 (60,9)	102 (82,9)	
Não		48 (39,1)	21 (17,1)	
<b>Sente-se preparado</b>				<b>0,0555</b>
Sim		33 (26,8)	44 (35,8)	
Não		90 (73,2)	79 (64,2)	
<b>Acredita ser pertinente</b>				<b>0,5488</b>
Sim		116 (26,8)	44 (35,8)	
Não		90 (73,2)	79 (64,2)	
<b>Motivos para desencorajamento</b>				<b>0,0065</b>
Falta de conhecimento		19 (15,5)	26 (21,3)	

Falta de treinamento	48 (39,3)	29 (23,7)
Falta de tempo	25 (20,49)	17 (13,9)
Desconforto com o tema	6 (5)	15 (12,3)
Medo de impor pontos de vista	11 (9)	19 (15,5)
Conhecimento de outras religiões	1 (0,8)	1 (0,8)
Não faz parte do meu trabalho	4 (3,2)	3 (2,5)
Medo de ofender	2 (1,6)	2 (1,6)
Medo da não aprovação	6 (4,9)	10 (8,2)
Outros	0 (0,0)	0 (0,0)

Tabela 2. Comparação dos estudantes de medicina quanto as características da prática clínica em espiritualidade no início e término de rodízio em cuidados paliativos em hospital do estado de Pernambuco, Brasil 2016.

Variáveis	Amostra n = 123	Início n (%)	Término n (%)	Valor p
Considera-se religioso(a)				0.4925
Sim		106 (86,1)	107 (86,9)	
Não		17 (13,9)	16 (13,1)	

Tabela 3. Comparação dos estudantes de medicina quanto as características de religiosidade individual no início e término de rodízio em cuidados paliativos em hospital do estado de Pernambuco, Brasil, 2016.

Variáveis	Amostra n = 123	Início n (%)	Término n (%)	Valor p
<b>Organizacional: costuma frequentar templo ou igreja.</b>				<b>0,0082</b>
Sim		110 (89,4)	115 (93,5)	
Não		13 (10,6)	8 (6,5)	0.6509
<b>Não organizacional: dedicação a atividades religiosas.</b>				
Mais do que uma vez ao dia		8 (6,5)	9 (7,3)	
Diariamente		39 (31,7)	39 (31,7)	
Duas ou mais vezes por semana		26 (21,1)	25 (20,3)	
Uma vez por semana		7 (5,6)	10 (8,1)	
Poucas vezes por mês		14 (11,3)	16 (13)	
Raramente ou nunca		29 (23,6)	24 (19,5)	0.3952
<b>Intrínseca: sensação de presença de Deus.</b>				
Sim		101 (81,1)	106 (86,1)	
Não		22 (17,9)	17 (13,9)	0.1644
<b>Intrínseca: religiosidade presente na minha forma de viver.</b>				
Sim		81 (65,8)	81 (65,8)	
Não		42 (34,2)	42 (34,2)	0.0358
<b>Intrínseca: esforço para viver a religiosidade na vida.</b>				
Sim		66 (53,6)	74 (60,1)	
Não		57 (46,4)	49 (39,9)	

Tabela 4. Comparações dos estudantes de medicina quanto as dimensões da prática religiosa no início e término de rodízio em cuidados paliativos em hospital do estado de Pernambuco, Brasil, 2016.

Variáveis	Amostra n = 123	Início n (%)	Término n (%)	Valor p
<b>Crença na presença de alma/espírito.</b>				<b>0.1006</b>
Sim		108 (87,8)	113(91,8)	
Não		7 (5,6)	3(2,4)	
Sem opinião formada		8 (6,5)	7(5,6)	
<b>Crença na presença de uma alma/espírito que se mantém viva apesar da morte.</b>				<b>0.7407</b>
Sim		83(67,4)	87(70,7)	
Não		13(10,5)	13 (10,5)	
Sem opinião formada		27 (22,1)	23 (18,8)	
<b>Crença em reencarnação.</b>				<b>0.0494</b>
Sim		33(26,8)	42(34,1)	
Não		53(43)	47(38,2)	
Sem opinião formada		37(30,2)	34(27,7)	

Tabela 5. Comparações dos estudantes de medicina quanto as características das concepções de transcendência e imortalidade no início e término de rodízio em cuidados paliativos em hospital do estado de Pernambuco, Brasil, 2016.

Variáveis	Amostra n = 123	Término n (%)
<b>Considera que a vivência contribuiu com suas crenças.</b>		
Sim		104 (84,5)
Não		5 (4,1)
Sem opinião formada		14 (11,4)
<b>Considera que a contribuição pode ser aplicada na prática.</b>		
Sim		106(86,2)
Não		0 (0,0)
Sem opinião formada		17(13,8)
<b>Como esta atuação na prática seria melhor enquadrada.</b>		
Mudança de religião/prática espiritual		1(0,8)
Maior assiduidade em práticas espirituais		22(17,9)
Menor assiduidade em práticas espirituais		1(0,8)
Maior interesse religioso/espiritual		71 (57,7)
Não se aplica		28(22,8)

Tabela 6. Descrição das características de contribuições apresentadas pelos estudantes de medicina no início e término de rodízio em cuidados paliativos em hospital do nordeste brasileiro, 2016.

## AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA RELIGIOSIDADE NA VIDA DE ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS COM ANSIEDADE E DEPRESSÃO

Data de aceite: 19/11/2018

**Leonardo Estevan Rosa Caldas**

Centro Universitário de Várzea Grande  
Várzea Grande - MT

**Rosivânia de Sousa Carvalho**

Centro Universitário de Várzea Grande  
Várzea Grande - MT

**Rodrigo Marques Campelo**

Centro Universitário de Várzea Grande  
Várzea Grande - MT

**Laíse de Paula Maitelli**

Centro Universitário de Várzea Grande  
Várzea Grande - MT

**Isabella de Oliveira Bom**

Centro Universitário de Várzea Grande  
Várzea Grande - MT

**Emanuel Mattioni Arrial**

Centro Universitário de Várzea Grande  
Várzea Grande - MT

**Hugo Dias Hoffmann Santos**

Centro Universitário de Várzea Grande  
Várzea Grande – MT  
Docente do curso de Medicina

**RESUMO:** O presente estudo teve como objetivo comparar a prevalência de ansiedade e depressão em relação aos hábitos e comportamentos religiosos de estudantes

universitários. Para isso, realizou-se um estudo transversal com alunos matriculados no UNIVAG Centro Universitário que responderam aos questionários *Hospital Anxiety and Depression Scale* (HAD) e Índice de Religiosidade da Duke University (DUREL) entre agosto de 2017 e julho de 2018. Um total de 640 estudantes universitários foram avaliados, com idade média igual a 22,4 anos (IC95%=22,0-22,8; Mínimo=16; Máximo=60, Mediana=21), sendo 56,7% (n=363) do sexo masculino e 43,3% (n=277) do sexo feminino. A prevalência de ansiedade foi igual a 30,0% e de depressão 8,9%. Se comportaram como fatores independentes e associados à ansiedade renda mensal 11-20 salários mínimos x 21 ou mais (RP=1,41; p=0,04), curso de graduação da área da saúde (RP=1,41; p=0,03) e religiosidade intrínseca alta (RP=0,74; p=0,02); e para depressão cursar quarto ano x primeiro ano (RP=2,02; p=0,03) e ansiedade, seja entre estudantes com religiosidade intrínseca baixa (RP=7,95; p<0,01) ou entre estudantes com religiosidade intrínseca alta (RP=6,16; p<0,01). Os dados sugerem que nem todos os domínios da religiosidade apresentam o mesmo impacto sobre ansiedade e depressão entre estudantes universitários, mas que aspectos relacionados à religiosidade intrínseca demonstram um

potencial terapêutico complementar.

**PALAVRAS-CHAVE:** depressão, ansiedade, religiosidade

## EVALUATION OF THE IMPACT OF RELIGIOUSITY ON LIFE OF UNIVERSITY STUDENTS WITH ANXIETY AND DEPRESSION

**ABSTRACT:** The present work has as objective to compare the prevalence of anxiety and depression between college students with religious beliefs and those without religiosity. To accomplish this purpose, a cross sectional was conducted with students enrolled in the Centro Universitário de Várzea Grande UNIVAG. They have dispensed few minutes answering the Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD) and Duke Religious Index (DUREL) questionnaires in a period between august 2017 and july 2018. A total of 640 people have been assessed. The average age of these students was 22,4 (Trust Index=22,0-22,8; minimum=16; Maximum=60; median=21). 56,7% of respondents were male and 43,% were female. The total prevalence of anxiety and depression disorders was respectively 30% and 8,9%. As independent risk factors related with anxiety, we found the monthly income between 11-20 minimum wages x 21 or more (RP=1,41; p=0,04), college graduation at a health area (RP=1,42; p=0,03) and high intrinsic religiosity (RP=6,16; p<0,01). Also, as independent risk factors related with depression, we observed being at the first and fourth year in college (RP=2,02; p=0,03) and having anxiety, both in students with low intrinsic religiosity (RP=7,95; p<0,01) and students with high intrinsic religiosity (RP=6,16; p<0,01). The data suggests that not all of the religiosity domains have the same impact on anxiety and depression on college students, but some points on internal religiosity reveal a complementary therapeutic potencial.

**KEYWORDS:** depression, anxiety, religiosity

### 1 | INTRODUÇÃO

De acordo com Vianna et al (2009), no século XIX iniciaram-se descrições sobre a ansiedade como uma disfunção da atividade mental. Para esse pioneirismo, houve contribuições de vários autores, dentre eles, destacam-se Augustin-Jacob Landré Beuvais e Otto Domrich.

Entretanto, não existia uma classificação sistemática clínica. Dessa forma, Sigmund Freud objetivou os quadros clínicos, denominando-os como crise aguda de angústia, neurose de angústia e expectativa ansiosa, que respectivamente representam ataques de pânico, transtorno de pânico e ansiedade generalizada. Todavia tornou-se necessário o desenvolvimento de uma classificação científica, pois suas denominações eram pressuposições teóricas que não se sustentavam

empiricamente (FREUD, 1927).

Por um longo período, houve a difusão de que os medos e as preocupações de uma antecipação de ameaça futura durante a infância eram momentâneos ou transitórios. Após várias edições do CID e do DSM, os critérios de diagnóstico dos transtornos de ansiedade seriam os mesmos para analisar as diferentes faixas etárias (VIANA et al, 2009).

Apesar da semelhança com medo, apresenta, como fator de diferenciação, o objeto que se toma como ameaça. Com relação ao medo, o perigo é proveniente de um estímulo externo e real, tendo sua origem em uma situação não conflituosa. No que tange a ansiedade, seu objeto de ameaça provém de fatores internos, vagos ou de origem conflituosa, tendo seu sentimento acompanhado de uma sensação de um perigo eminente.

Sabendo que há uma normalidade da presença da ansiedade no cotidiano, a percepção de quando ela se torna patológica, se dá quando ela se apresenta de forma desproporcional à situação ou desencadeia ou que não há um objeto específico para que haja tal reação, além de se apresentar em um longo período de tempo.

Contudo, como sempre há a presença de diferentes tipos de ansiedade, é possível que haja uma miscigenação entre os dois tipos. Isso ocorre, quando diante de um perigo real há uma reação exacerbada do indivíduo, a ponto de apresentar elementos neuróticos, demonstrando que a esse perigo real conhecido se acha ligado um perigo instintual desconhecido (DE SOUSA et al, 2013).

De acordo com a APA (2014), a depressão, denominada transtornos depressivos, é caracterizado por episódios distintos de pelo menos duas semanas de duração que envolvem alterações nítidas no afeto, na cognição e nas funções neurovegetativas, de forma recorrente na maioria dos casos. Existem vários tipos de transtornos depressivos, mas o mais comum está relacionado com o humor deprimido e a perda de interesse e prazer, prevalente em quase 10% da população norte-americana, sendo três vezes mais comum entre pessoas com idade entre 18 a 29 anos, do sexo feminino.

Cavestro e Rocha (2006) identificaram a prevalência de depressão em estudantes universitários entre 7-9%. Gama et al (2008) observaram que os maiores níveis de ansiedade foram encontrados em pessoas do sexo feminino, solteiras, com até 30 anos de idade.

O presente estudo teve como objetivo identificar os fatores associados à ansiedade e depressão entre estudantes universitários.

## 2 | MÉTODOS

Trata-se de um estudo epidemiológico, observacional, analítico e transversal desenvolvido com estudantes universitários regularmente matriculados no UNIVAG Centro Universitário, Várzea Grande, Mato Grosso.

Uma amostra mínima necessária de 450 estudantes universitários foi calculada levando em consideração uma população de 4000 estudantes universitários, uma prevalência do desfecho de 30%, com 5% de margem de erro aceitável, com efeito do desenho de 1,5 e clusters igual 1 para um nível de confiança de 95%, pelo programa StatCalc incluso no pacote Epi Info 7 (CDC, Atlanta, EUA).

## 3 | ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) via Plataforma Brasil e aprovado sob CAAE n.º 88342717.0.0000.5692. Os questionários foram aplicados depois que os alunos receberam informações sobre a pesquisa e preencheram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

## 4 | INSTRUMENTOS AVALIATIVOS

Para o diagnóstico de provável ansiedade e depressão foi utilizado o questionário *Hospital Anxiety and Depression Scale* (HAD), validado para uso no Brasil por Botega et al (1995) e contém 14 questões do tipo múltipla escolha, sendo composta por duas subescalas, uma para ansiedade e outra para depressão, somando pontuação entre 0 e 21 cada. Originalmente os escores do HAD possuem três classificações: normal (0-7), caso borderline (8-10) e caso (11-21), entretanto, para análise estatística estas categorias foram dicotomizadas em presença (escores  $\geq 11$ ) ou ausência ( $<11$ ).

Para o diagnóstico de religiosidade foi utilizado o Índice de Religiosidade da Duke University (DUREL), composto por cinco itens que mensuram três das principais dimensões do envolvimento religioso relacionados a desfechos de saúde, como religiosidade organizacional (RO) na primeira pergunta, religiosidade não organizacional (RNO) na segunda pergunta e religiosidade intrínseca (RI) nas últimas três perguntas, cujos índices devem ser avaliados separadamente para cada dimensão. Foi validado no Brasil por Taunay et al (2012) e trata-se de um instrumento sucinto e de fácil aplicação, cujas dimensões religiosas compreendidas tem se mostrado relacionadas a diversos indicadores de saúde física e mental além de suporte social. As dimensões RO e RNO foram dicotomizadas em “religiosidade alta” quando escores entre 1-3 e “religiosidade baixa” quando escores entre 4-6.

A dimensão RI foi considerada como “religiosidade alta” quando a somatória dos escores das respostas obteve valores entre 3-6 e “religiosidade baixa” quando escores entre 7-16.

## 5 | ANÁLISE DE DADOS

A sumarização das variáveis categóricas foi realizada por meio de tabelas com suas respectivas frequências absolutas e relativas e das variáveis numéricas por meio de médias e intervalos de confiança a 95% (IC95%) ou medianas e intervalos interquartis (IQR), dependendo do tipo de distribuição avaliado pelo teste de Shapiro-Wilk. Foi utilizado o teste t não pareado para avaliar a diferença entre as médias em variáveis categóricas dicotômicas, ou seu análogo não paramétrico teste de Mann-Whitney. A diferença estatística foi considerada quando o p-valor foi menor que 0,05 no teste bicaudal.

Para determinar o efeito independente das variáveis exploratórias sobre a variável resposta, foi utilizada a regressão de Poisson com variância robusta para ajustar as covariáveis. As variáveis selecionadas para este modelo tiveram valor de  $p \leq 0,20$  na análise bivariada ou plausibilidade biológica. Todas as análises serão realizadas no pacote estatístico Stata Statistical Software® versão 12.0 (College Station, Texas, EUA).

## 6 | RESULTADOS

Foram avaliados 640 estudantes universitários, com idade média igual a 22,4 anos (IC95%=22,0-22,8; Mínimo=16; Máximo=60, Mediana=21), sendo 56,7% (n=363) do sexo masculino e 43,3% (n=277) do sexo feminino. A tabela 1 apresenta a frequência de ansiedade e depressão entre estudantes universitários.

<b>Diagnóstico</b>	<b>Ansiedade</b>	<b>Depressão</b>
Normal	282 (44,1)	473 (73,9)
Borderline	166 (25,9)	110 (17,2)
Caso	192 (30,0)	57 (8,9)
<b>Total</b>	<b>640 (100,0)</b>	<b>640 (100,0)</b>

Tabela 1. Frequência absoluta e relativa da avaliação diagnóstica do questionário *Hospital Anxiety and Depression Scale* (HAD) entre estudantes universitários

Aqueles com alta religiosidade intrínseca possuem escore médio de ansiedade estatisticamente menor que os com a intrínseca baixa (figura 1).

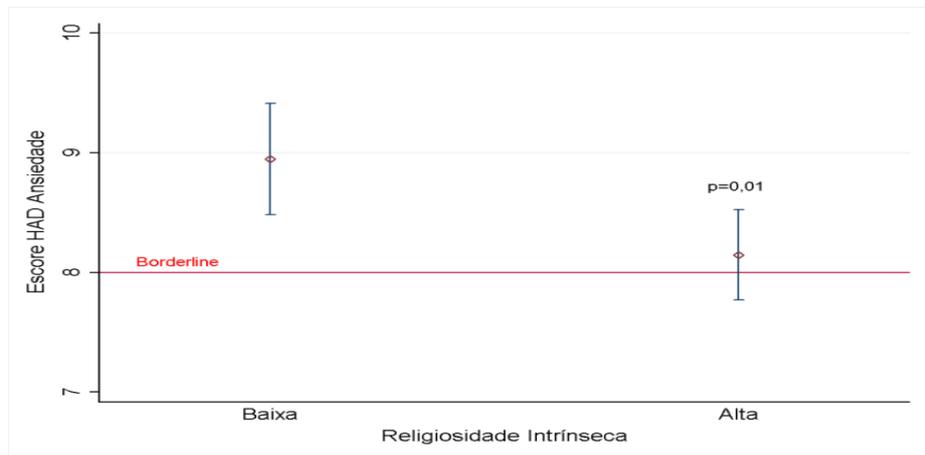


Figura 1. Médias e intervalos de confiança a 95% do escore HAD da ansiedade segundo o grau de religiosidade intrínseca.

Estudantes com alta religiosidade não organizacional apresentaram escore médio de ansiedade estatisticamente semelhante que estudantes com religiosidade não organizacional baixa (figura 2).

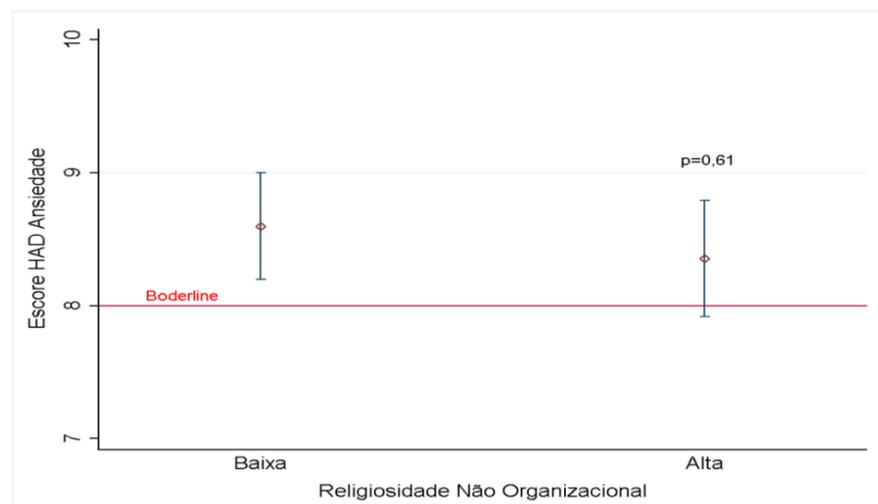


Figura 2. Médias e intervalos de confiança a 95% do escore HAD da ansiedade entre estudantes universitários segundo o grau de religiosidade não organizacional.

Estudantes com alta religiosidade organizacional apresentaram escore médio de ansiedade estatisticamente semelhante que estudantes com religiosidade organizacional baixa (figura 3).

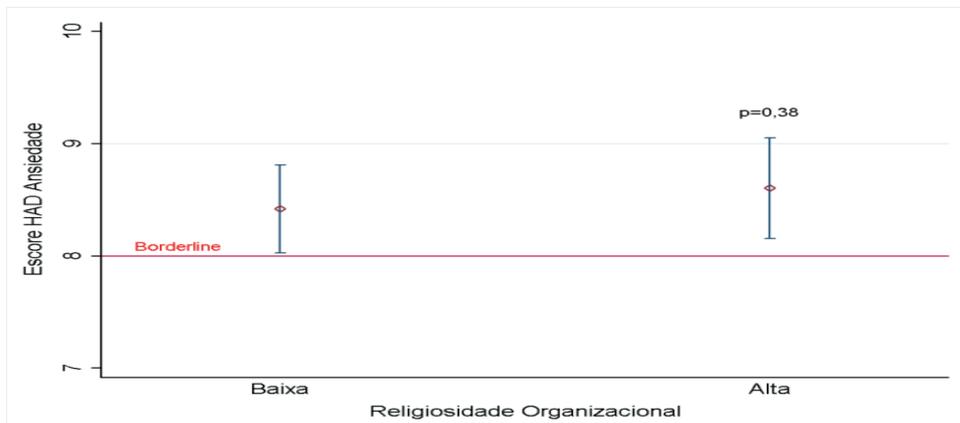


Figura 3. Médias e intervalos de confiança a 95% do escore HAD da ansiedade entre estudantes universitários segundo o grau de religiosidade organizacional.

Estudantes com alta religiosidade intrínseca apresentaram escore médio de depressão estatisticamente menor que estudantes com religiosidade intrínseca baixa (figura 4).

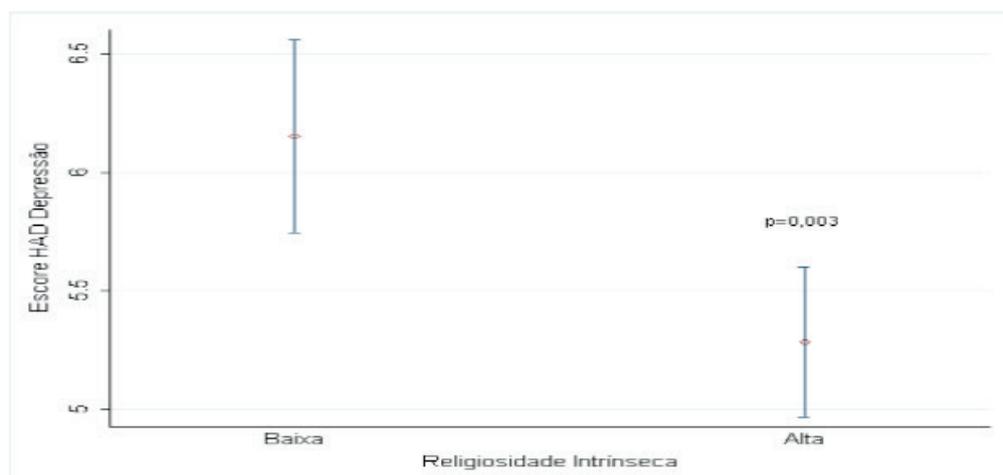


Figura 4. Médias e intervalos de confiança a 95% do escore HAD da depressão entre estudantes universitários segundo o grau de religiosidade intrínseca.

Estudantes com alta religiosidade não organizacional apresentaram escore médio de depressão estatisticamente menor que estudantes com religiosidade não organizacional baixa (figura 5).

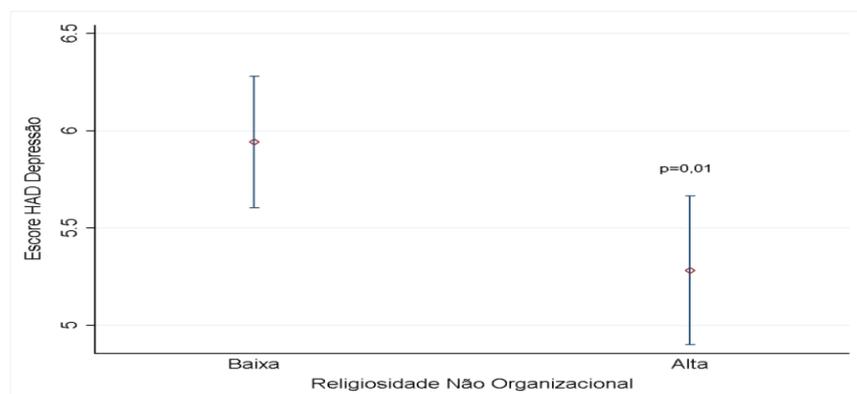


Figura 5. Médias e intervalos de confiança a 95% do escore HAD da depressão entre estudantes universitários segundo o grau de religiosidade não organizacional.

Estudantes com alta religiosidade organizacional apresentaram escore médio de depressão estatisticamente semelhante aos estudantes com religiosidade organizacional baixa (figura 6).

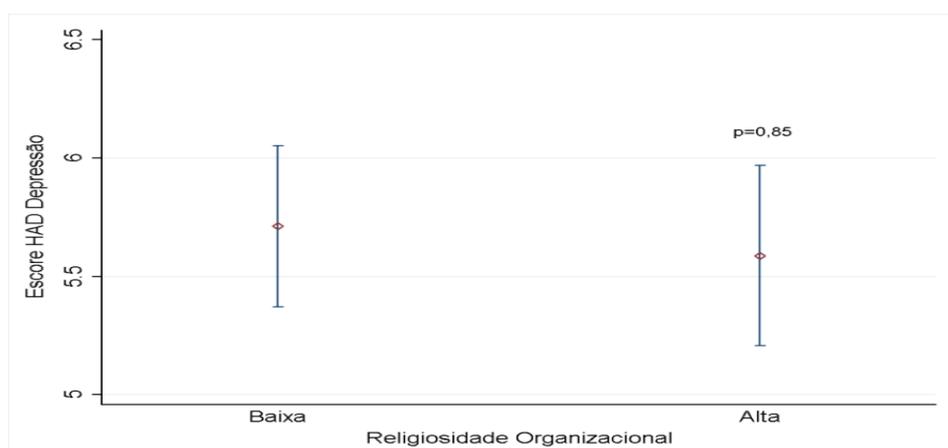


Figura 6. Médias e intervalos de confiança a 95% do escore HAD da depressão entre estudantes universitários segundo o grau de religiosidade organizacional.

Em análise bivariada, a prevalência de ansiedade foi maior entre aqueles com idade  $\leq 21$  anos, no primeiro e segundo ano do curso, com aulas no período integral, mas foi mais baixa entre os estudantes universitários que possuíam alta religiosidade intrínseca (tabela 2).

Fatores Associados	Ansiedade		RP-bruta (IC95%)	p
	n (%)			
	Sim	Não		
<b>Sexo</b>				
Masculino	102 (28,1)	261 (71,9)	0,86 (0,68-1,09)	0,23
Feminino	90 (32,5)	187 (67,5)	1,00	
<b>Idade</b>				
$\leq 21$ anos	119 (33,7)	234 (66,3)	1,32 (1,04-1,69)	0,02
$> 21$ anos	73 (25,4)	214 (74,6)	1,00	

Renda mensal, SM				
1 a 10	79 (30,1)	183 (69,9)	1,21 (0,87-1,66)	0,25
11 a 20	71 (33,8)	139 (66,2)	1,35 (0,98-1,87)	0,07
21 ou mais	42 (25,0)	126 (75,0)	1,00	
Área do curso				
Saúde	143 (32,3)	300 (67,7)	1,30 (0,98-1,71)	0,06
Outras	49 (24,9)	148 (75,1)	1,00	
Ano do curso				
1º	60 (32,4)	125 (67,6)	2,47 (1,06-5,73)	0,04
2º	34 (34,0)	66 (66,0)	2,58 (1,09-6,11)	0,03
3º	45 (28,7)	112 (71,3)	2,17 (0,93-5,11)	0,07
4º	48 (30,0)	112 (70,0)	2,28 (0,97-5,34)	0,06
5º	5 (13,2)	33 (86,8)	1,00	
Período do curso				
Matutino	48 (28,1)	123 (71,9)	1,71 (0,90-3,26)	0,10
Integral	135 (32,6)	279 (67,4)	1,99 (1,08-3,68)	0,03
Noturno	9 (16,4)	46 (83,6)	1,00	
Religiosidade organizacional				
Alta	84 (32,1)	178 (67,9)	1,22 (0,88-1,42)	0,34
Baixa	108 (28,6)	270 (71,4)	1,00	
Religiosidade não organizacional				
Alta	80 (29,3)	193 (70,7)	0,96 (0,75-1,22)	0,74
Baixa	112 (30,5)	255 (69,5)	1,00	
Religiosidade intrínseca				
Alta	97 (26,8)	265 (73,2)	0,78 (0,62-0,99)	0,04
Baixa	95 (34,2)	183 (65,8)	1,00	

Tabela 2. Fatores associados à ansiedade entre estudantes universitários.

RP = razão de prevalência; SM = salário-mínimo

Em análise bivariada, a prevalência de depressão foi estatisticamente maior entre os estudantes do quarto ano do curso quando comparado com os estudantes do primeiro ano e também entre aqueles que apresentaram provável diagnóstico de ansiedade (tabela 3).

Fatores Associados	Depressão		RP-bruta (IC95%)	p
	n (%)			
	Sim	Não		
<b>Sexo</b>				
Masculino	37 (10,2)	326 (89,8)	1,41 (0,84-2,37)	0,19
Feminino	20 (7,2)	257 (92,8)	1,00	
<b>Idade</b>				
≤ 21 anos	28 (7,9)	325 (92,1)	0,78 (0,48-1,29)	0,34
> 21 anos	29 (10,1)	258 (89,9)	1,00	
<b>Renda mensal, SM</b>				

1 a 10	25 (9,5)	237 (90,5)	1,46 (0,74-2,88)	0,28
11 a 20	21 (10,0)	189 (90,0)	1,52 (0,76-3,08)	0,24
21 ou mais	11 (6,5)	157 (93,5)	1,00	
<b>Área do curso</b>				
Saúde	42 (9,5)	401 (90,5)	1,24 (0,71-2,19)	0,44
Outras	15 (7,6)	182 (92,4)	1,00	
<b>Ano do curso</b>				
1º	12 (6,5)	173 (93,5)	1,00	
2º	13 (13,0)	87 (87,0)	2,00 (0,95-4,22)	0,07
3º	9 (5,7)	148 (94,3)	0,88 (0,38-2,04)	0,77
4º	21 (13,1)	139 (86,8)	2,02 (1,02-3,98)	<b>0,04</b>
5º	2 (5,3)	36 (94,7)	0,81 (0,19-3,48)	0,78
<b>Período do curso</b>				
Matutino	14 (8,2)	157 (91,8)	1,00	
Integral	39 (9,4)	375 (90,6)	1,15 (0,64-2,06)	0,64
Noturno	4 (7,3)	51 (92,7)	0,88 (0,30-2,58)	0,83
<b>Religiosidade organizacional</b>				
Alta	34 (9,0)	344 (91,0)	0,97 (0,59-1,61)	0,92
Baixa	23 (8,8)	239 (91,2)	1,00	
<b>Religiosidade não organizacional</b>				
Alta	23 (8,4)	250 (91,6)	0,91 (0,55-1,51)	0,71
Baixa	34 (9,3)	333 (90,7)	1,00	
<b>Religiosidade intrínseca</b>				
Alta	27 (7,5)	335 (92,5)	0,69 (0,42-1,13)	0,14
Baixa	30 (10,8)	248 (89,2)	1,00	
<b>Ansiedade</b>				
Sim	45 (23,4)	147 (76,6)	8,75 (4,73-16,2)	<b>&lt;0,001</b>
Não	12 (2,7)	436 (97,3)	1,00	

Tabela 3. Fatores associados à depressão entre estudantes universitários.

RP = razão de prevalência; SM = salário-mínimo

Os fatores independentes e associados à prevalência de ansiedade foram: renda mensal de 11 a 20 salários mínimos, graduação em cursos da área da saúde e alta religiosidade intrínseca (tabela 4).

Fatores Associados	RP-justada (IC95%)	p
<b>Renda mensal, SM</b>		
1 a 10	1,38 (0,98-1,94)	0,06
11 a 20	1,41 (1,02-1,95)	0,04
21 ou mais	1,00	
<b>Área do curso</b>		
Saúde	1,41 (1,04-1,95)	0,03
Outras	1,00	
<b>Religiosidade intrínseca</b>		

Alta	0,74 (0,57-0,96)	0,02
Baixa	1,00	

Tabela 4. Regressão de Poisson dos fatores associados à ansiedade entre estudantes universitários curso e religiosidade organizacional.

RP: Razão de Prevalência; SM: Salários-Mínimos; Modelo ajustado por: sexo, idade  $\leq$  21 anos,

Os fatores independentes e associados à depressão foram: cursar o quarto ano da graduação em comparação com o primeiro e ansiedade, entretanto, esta última variável apresentou efeitos distintos dependendo do grau de religiosidade intrínseca (tabela 5).

Fatores Associados	RP-justada (IC95%)	p
<b>Ano do curso</b>		
1º	1,00	
2º	1,80 (0,89-3,64)	0,09
3º	0,93 (0,41-2,08)	0,86
4º	2,02 (1,08-3,80)	0,03
5º	1,18 (0,26-5,48)	0,83
<b>Ansiedade e religiosidade intrínseca</b>		
Não e Alta	0,67 (0,21-2,07)	0,49
Sim e Baixa	7,95 (3,41-18,5)	<0,01
Sim e Alta	6,16 (2,65-14,3)	<0,01

Tabela 5. Regressão de Poisson dos fatores associados à depressão entre estudantes universitários.

RP: Razão de Prevalência; SM: Salários-Mínimos; Modelo ajustado por: sexo, idade e área do curso de graduação.

## 7 | DISCUSSÃO

Em relação aos considerados borderline com probabilidade de se tornar um caso futuro, o presente estudo observou que estudantes que vivem em famílias com renda mensal entre 11-20 salários-mínimos apresentaram prevalência de ansiedade 41% maior que estudantes com renda superior a 20 salários-mínimos. Estudantes de cursos de graduação da área da saúde apresentaram prevalência de ansiedade 41% maior que estudantes de outras áreas. A prevalência de ansiedade foi 26% menor entre aqueles que apresentaram religiosidade intrínseca alta quando comparado com os que apresentaram religiosidade intrínseca baixa.

A cada cem estudantes universitários nove estavam sofrendo de transtorno depressivo no momento da realização deste estudo. Incluindo aqueles classificados como borderline, temos que um quarto destes estudantes foram ou poderão ser acometidos por esse distúrbio mental altamente incapacitante. Alunos do quarto

ano da graduação apresentaram prevalência de depressão 100% maior que alunos do primeiro ano e o grau de religiosidade intrínseca modificou o efeito da ansiedade como fator associado à depressão.

A avaliação dos desfechos deste estudo foi realizada por meio de um delineamento transversal, sendo assim, pela ausência de seguimento destes estudantes não é possível realizarmos a inferência de causalidade. Logo, como todo estudo transversal, existe a possibilidade da ocorrência do viés de causalidade reversa, onde a exposição muda como resultado da doença. Pode ser o caso da associação entre alta religiosidade intrínseca e ansiedade uma vez que pessoas com transtornos de ansiedade podem buscar uma religião como um alívio de traumas emocionais.

Moutinho et al (2017) avaliaram 761 estudantes de medicina em Minas Gerais e observaram prevalência de depressão igual a 34,6% e de ansiedade igual a 37,2%, ambas maiores do que as encontradas nos estudantes de Mato Grosso. Os escores de ansiedade dos estudantes do primeiro semestre foram estatisticamente maiores que os escores dos estudantes do décimo ( $p=0,04$ ) e décimo primeiro ( $p=0,02$ ) semestres. Os escores de depressão foram estatisticamente maiores entre os estudantes do segundo semestre quando comparados com os estudantes do primeiro ( $p=0,04$ ). No estudo realizado em Mato Grosso a depressão entre os estudantes do sétimo e oitavos semestres foi o dobro da depressão dos estudantes do primeiro e segundo semestres. Se o motivo da depressão nestes dois grupos estiver relacionado à atual vida acadêmica ou a futura vida profissional é possível que em Minas Gerais tenha relação com a não identificação com a carreira pelo fato da depressão ocorrer logo no início da graduação, enquanto que em Várzea Grande pode estar relacionado com a angústia em torno da necessidade de encontrar espaço no mercado de trabalho pelo fato de ocorrer mais próximo do término da graduação. Embora 63% ( $n=405$ ) dos estudantes avaliados em Várzea Grande tenham sido da graduação em medicina, outros cursos foram incluídos neste estudo, como agronomia, ciências contábeis, engenharias e psicologia, logo, a heterogeneidade dos grupos pode por si só explicar a comparação. Além disso, os estudantes avaliados em Minas Gerais cursam graduação em uma universidade pública, enquanto os estudantes de Várzea Grande cursam graduação em uma instituição de ensino privada, sendo assim, a própria cobrança psicológica do aluno em se formar e procurar rapidamente ter renda proporcional ao nível de instrução recém-adquirido para honrar com o pagamento dos financiamentos estudantis utilizados pode contribuir para uma maior depressão no final da graduação.

Carvalho et al (2014) avaliaram o efeito da religião sobre a ansiedade em pacientes com câncer em tratamento quimioterápico e constataram redução estatisticamente significativa ( $p<0,01$ ) do escore de ansiedade quando compararam

um período anterior e posterior à intervenção religiosa. No estudo em Várzea Grande o grupo de estudantes universitários com alta religiosidade intrínseca apresentaram escore médio de ansiedade estatisticamente menor e essa diferença não foi observada quando comparados os grupos em relação à religiosidade organizacional e não organizacional. O grupo de estudantes com religiosidade intrínseca baixa apresentou escore médio e respectivo intervalo de confiança totalmente acima do limite que define borderline, enquanto que no caso da alta religiosidade intrínseca o intervalo de confiança possuía valores dentro do intervalo de escore considerado normal. Ou seja, mesmo avaliando os escores de ansiedade a religiosidade intrínseca apresentou efeito protetor no sentido de auxiliar o indivíduo a racionalizar seus sentimentos na busca de um propósito para a vida e para o próprio sofrimento.

De acordo com Assari (2018), a ansiedade aumenta o risco de ideação suicida em 62%, mas a depressão aumenta esse risco em 410%. Este mesmo estudo observou que o envolvimento em atividades religiosas reduziu o risco de ideação suicida em 7%. Neste estudo que avaliou 27.961 estudantes universitários nos EUA, a prevalência de ansiedade foi igual a 11,1% e de depressão igual a 27,6%. No estudo conduzido em Várzea Grande, diferentemente, a prevalência de ansiedade foi maior que a de depressão. Como depressão é um forte fator de risco para ideação suicida entre estudantes universitários, conhecer e acompanhar essa população se torna cada vez mais importante.

A religiosidade intrínseca não está associada apenas a uma redução das prevalências de ansiedade, depressão e ideação suicida, mas se comporta também como fator de proteção contra o abuso de substâncias psicoativas (ASSAF et al, 2018). Por exemplo, a prática de orações apresentou correlação negativa com escores de depressão ( $\rho=-0,19$ ;  $p<0,01$ ) e estresse ( $\rho=-0,11$ ;  $p<0,01$ ) entre estudantes universitários (NADEEM et al, 2017). Entre estudantes universitários do curso de enfermagem foi observado que entre os que tiveram altos níveis de bem-estar espiritual a maior parte marcou níveis mínimos ou moderados de ansiedade (FABBRIS et al, 2017). Percebe-se que pessoas com envolvimento religioso também desenvolvem ansiedade e depressão independentemente do seu grau de envolvimento, entretanto, o risco de desenvolver esses tipos de transtornos mentais é menor e mesmo em sua ocorrência os escores diagnósticos não são tão altos quanto os que não possuem nenhum tipo de prática religiosa.

De acordo com Martinez et al (2014), os domínios da religiosidade (organizacional – RO; não organizacional – RNO; e intrínseca – RI) possibilita uma avaliação mais objetiva dessa variável tão complexa e inerente à humanidade. Enquanto que a RO avalia a frequência a encontros religiosos (cultos, missas, cerimônias e grupos de oração) e, por isso, está relacionada à uma dinâmica social, a RNO aborda determinados comportamentos religiosos realizados fora de um

ambiente religioso, mas é na RI onde a religião assume um significado mais amplo para envolver todos os aspectos da vida do indivíduo. Os autores supracitados afirmam ainda que RO e RNO (religiosidade extrínseca) se trata de um meio para obter segurança, consolo, sociabilidade ou distração enquanto que a RI não possui por interesse primário estes ganhos e por isso tem por foco a crença religiosa em si. Nos estudantes avaliados no presente estudo, a RNO e RO alta não apresentou efeito protetivo para ansiedade e depressão quando comparado com RNO e RO baixa, entretanto, a RI alta reduziu a prevalência de ansiedade em 26%. Resultado interessante foi o fato da RI alta reduzir a força da associação entre ansiedade e depressão, ou seja, enquanto a prevalência de depressão foi 695% maior entre os estudantes com ansiedade e RI baixa ela foi 516% maior entre aqueles com ansiedade e RI alta. Logo, a presença de RI alta reduziu o efeito da ansiedade sobre a depressão em 26%. Percebe-se então que a RI pode ser utilizada como meio terapêutico complementar para estes dois tipos de transtornos mentais comuns.

Este estudo observou que níveis inferiores de renda aumentaram a prevalência de ansiedade. Trata-se de uma relação direta e prática, especialmente na vida de estudantes universitários de uma instituição de ensino privada que precisam arcar com despesas de mensalidade, livros e outros materiais. O fato de 65% destes estudantes cursarem graduação de tempo integral no momento do estudo nos ajuda a compreender a importância da renda sobre a ansiedade, pois esse tipo de curso impossibilita o estudante a ter vínculo empregatício para ter sua própria renda e o torna quase que totalmente dependente do recurso de familiares para realizar qualquer atividade acadêmica.

Vale ressaltar que embora a religiosidade não organizacional não tenha apresentado escores médios de ansiedade estatisticamente diferentes entre os estudantes com graus baixo ou alto, os escores médios de depressão foram estatisticamente menores entre aqueles que apresentaram religiosidade não organizacional alta. Esse domínio da religiosidade avalia a frequência da realização de orações, preces, meditações ou leitura de livros religiosos.

Estudantes dos cursos de área da saúde apresentaram prevalência de ansiedade 41% maior. Dos 443 estudantes dessa área, 405 eram estudantes do curso de medicina (91,4%). Logo, essa forte associação com ansiedade provavelmente se deve a características desta população de estudantes que, por sinal, possui nível socioeconômico distinto dos demais estudantes universitários.

O presente estudo nos permite concluir que nem todas as formas de religiosidade reduzem a prevalência de transtornos mentais como ansiedade e depressão, que aspectos socioeconômicos podem aumentar a prevalência de ansiedade, que a prevalência de depressão é maior no último ano da faculdade do que no primeiro e que a religiosidade intrínseca pode reduzir a prevalência de ansiedade e reduzir a

prevalência de depressão em pessoas com ansiedade.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5**. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ASSAF, G.; et al. Medical students' knowledge, attitudes and behaviours related to substance use in Lebanon: a cross-sectional survey. **East Mediterr. Health J.**, v. 23, n. 11, p. 734-743, jan. 2018.

ASSARI, S. Multiplicative effects of social and psychological risk factors on college students' suicidal behaviors. **Brain Sci.**, v. 8, n. 5, p. 91, maio 2018.

BOTEGA, N.J.; BIO, M.R.; ZOMIGNANI, M.A.; GARCIA Jr, C.; PEREIRA, W.A.B. Transtornos de humor em enfermagem de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade e depressão. **Rev. Saúde Pública**, v. 29, n. 5, p. 355-363, 1995.

CARVALHO, C.C.; et al. A efetividade da prece na redução da ansiedade em pacientes com câncer. **Rev. Esc. Enferm. USP**, v. 48, n. 4, p. 683-689, 2014.

CAVESTRO, J.M.; ROCHA, F.L. Prevalência de depressão entre estudantes universitários. **J. Bras. Psiquiatr.**, v. 55, n. 4, p. 264-267, 2006.

FREUD, S. **An autobiographical study: The problem of lay-analyses**. Nova Iorque, p. 189-316, 1927. Disponível em: [https://www.valas.fr/IMG/pdf/Freud\\_portugais\\_C\\_20-23.pdf](https://www.valas.fr/IMG/pdf/Freud_portugais_C_20-23.pdf) Acesso em: 05 abr. 2017.

GAMA, M.M.A.; MOURA, G.S.; ARAÚJO, R.F.; TEIXEIRA-SILVA, F. Ansiedade-traço em estudantes universitários de Aracaju (SE). **Rev. Psiquiatr.**, v. 30, n. 1, p. 19-24, 2008.

MARTINEZ, E.Z.; et al. Investigação das propriedades psicométricas do Duke Religious Index no âmbito da pesquisa em Saúde Coletiva. **Cad. Saúde Colet.**, v. 22, n. 4, p. 419-427, 2014.

MOUTINHO, I.L.D.; et al. Depression, stress and anxiety in medical students: a cross-sectional comparison between students from different semesters. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 63, n. 1, p. 21-28, 2017.

NADEEM, M.; et al. The association between muslim religiosity and young adult college students' depression, anxiety, and stress. **J. Relig. Health.**, v. 56, n. 4, p. 1170-1179, ago. 2017.

TAUNAY, T.C.D.; GONDIM, F.A.A.; MACÊDO, D.S.; MOREIRA-ALMEIDA, A.; GURGEL, L.A.; ANDRADE, L.M.S.; CARVALHO, A.F. Validação da versão brasileira da escala de religiosidade de Duke (DUREL). **Rev. Psiq. Clín.**, v. 39, n. 4, p. 130-135, 2012.

VIANNA, R.R.A.B.; CAMPOS, A.A.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Transtornos de ansiedade na infância e adolescência: uma revisão. **Rev. Bras.Ter. Cogn.**, v. 5, n. 1, p. 46-61, jun. 2009.

## DOR FÍSICA E EMOCIONAL DE TRABALHADORAS DA ENFERMAGEM: UMA EXPERIÊNCIA COM UM PROGRAMA ADAPTADO DE MINDFULNESS (PAM) NO CONTEXTO HOSPITALAR

Data de aceite: 19/11/2018

### **Shirlene Aparecida Lopes**

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)

Departamento de Clínica Médica – Educação e Saúde, São Paulo, SP, Brasil.

### **Vicente Sarubbi Junior**

Curso de Medicina da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Unidade Universitária de Campo Grande, Campo Grande, MS, Brasil.

### **Marcelo Marcos Piva Demarzo**

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Centro Brasileiro de Mindfulness e Promoção de Saúde – Mente Aberta e Departamento de Medicina Preventiva, São Paulo, SP, Brasil.

### **Maria do Patrocínio Tenório Nunes**

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Departamento de Clínica Médica – Educação e Saúde, São Paulo, SP, Brasil.

**RESUMO:** Neste capítulo será apresentado um recorte qualitativo com relatos e entrevistas de um estudo sobre um Programa Adaptado de *Mindfulness* (PAM) com enfoque na dor por queixas osteomusculares em 64 trabalhadoras da enfermagem em um hospital Universitário Público em São Paulo. As Intervenções Baseadas em *Mindfulness* (IBMs), no escopo

das abordagens da medicina mente e corpo, tem sido alvo de inúmeros estudos científicos, demonstrando resultados promissores e de baixo custo para as condições de saúde da população, inclusive no manejo da dor crônica. A dor é o sintoma mais prevalente em indivíduos com distúrbios musculoesqueléticos, queixa recorrente na categoria da enfermagem e temática que também tem sido alvo de muitas evidências com incentivo para abordagens que contribuam na mudança deste cenário. O PAM se baseou em programas estruturados por diretrizes internacionais, adaptado às necessidades e no contexto do público estudado, sob uma gestão participativa, ao oferecer um espaço para aprendizado de técnicas meditativas e processo psicoeducativo, visando aprimorar habilidades de autorregulação atencional e emocional para o manejo da dor e incentivo ao autocuidado. Os dados apresentados apontaram que o PAM contribuiu na melhora dos sintomas físicos e emocionais da dor e percepção da qualidade de vida, bem como o repensar para o autocuidado do público estudado, com a incorporação e manutenção das práticas após três meses de intervenção. Esperamos que outros estudos, com temáticas e contextos semelhantes, possam avaliar a eficácia das IBMs no manejo da dor na saúde

do trabalhador na Enfermagem.

**PALAVRAS-CHAVE:** enfermagem, dor crônica, meditação *mindfulness*, práticas integrativas, saúde do trabalhador

## THE PHYSICAL AND EMOTIONAL PAIN OF NURSING WORKERS: AN EXPERIENCE WITH AN ADAPTED MINDFULNESS PROGRAM (AMP) IN THE HOSPITAL CONTEXT

**ABSTRACT:** This chapter presents the qualitative data from a study on an Adapted Mindfulness Program (AMP). It was based on the reports and interviews of 64 nursing workers in a public university hospital in São Paulo, who presented chronic musculoskeletal pain. Mindfulness-based interventions (MBIs), as part of mind and body medicine have been the subject of numerous scientific studies, showing promising and cost-effective results for the population's health conditions, including chronic pain management. Pain is the most prevalent symptom in individuals with musculoskeletal disorders. This is a recurring complaint in the nursing category. There are some evidences for MBIs as an approach that contributes to changing this scenario. AMP was based on programs structured by international guidelines adapted to the needs and context of the studied population. The program is based on participatory management by providing a space for learning meditative techniques and the psychoeducational process. It aims to improve attentional and emotional self-regulation skills for pain management and self-care incentive. Data indicated that AMP contributed to the improvement of physical and emotional symptoms of pain and the perception of quality of life. It also helped to increase self-care of the studied population, which incorporated and maintained the practices after three months of intervention. We hope that other studies with similar themes and contexts will be able to evaluate the effectiveness of MBIs in the management of pain in nursing workers' health.

**KEYWORDS:** Nursing, chronic pain, mindfulness meditation, integrative practices, occupational health

### 1 | MINDFULNESS NO CONTEXTO DA SAÚDE

No Brasil, a partir de 2006, as práticas meditativas foram reconhecidas e inseridas pela Política Nacional de Práticas integrativas e complementares no Sistema Único de Saúde, como ferramenta terapêutica que traz benefícios cognitivos, físicos e emocionais ao praticante (Brasil 2006). Dentre as evidências das abordagens da medicina mente e corpo, destacam-se as Intervenções Baseadas em Mindfulness (IBMs) em uma atuação não religiosa, autoadministrável e de baixo custo.

A palavra *mindfulness* é uma tradução da palavra *sati*, do idioma *páli*, uma palavra polissêmica de difícil tradução por se tratar de um conceito enraizado no

budismo. *Mindfulness* é a consciência que emerge ao se prestar atenção, de forma intencional e não julgadora, nas experiências do momento presente (Kabat-Zinn, 2009).

A primeira intervenção no Ocidente utilizando IBMs como abordagem terapêutica ocorreu na década de 1970 por Jon Kabat-Zinn e colegas na Universidade de Massachusetts, EUA. Os pesquisadores fomentaram um programa estruturado para redução de estresse incluindo a dor crônica, chamado de programa baseado em *mindfulness* para redução de estresse (*Mindfulness Based Stress Reduction – MBSR*) (Kabat-Zinn 1982).

No estudo, os pacientes apresentavam dor crônica nas costas, pescoço, ombro e dor de cabeça. Os participantes se reuniam semanalmente por aproximadamente duas horas e meia para a prática de um conjunto de técnicas ou exercícios mentais. Os resultados sugeriram que as práticas da meditação facilitaram a melhora do quadro algico, promovendo redução da dimensão sensorial da dor e do sofrimento ao adotar uma postura mais consciente ao se lidar com a dor (Kabat-Zinn 1982). A partir do MBSR, outros programas baseados nas práticas da atenção ou consciência plena foram elaborados com enfoques específicos para determinadas situações e faixas etárias.

As principais técnicas utilizadas nas IBMs tem sido práticas meditativas com o foco nas sensações da respiração, do corpo em repouso, da caminhada e movimento consciente, podendo ser realizadas por indivíduos com diferentes níveis de capacidade e limitações físicas. Estas práticas englobam a experiência no momento presente, nos pensamentos, emoções e percepções corporais ao observar as sensações que surgem e desaparecem. No estudo “*How does Mindfulness Meditation Work?*” (Hölzel, Lazar et al.), os autores verificaram alguns mecanismos emocionais que sofrem alteração com a prática da atenção plena: (a) regulação de atenção, (b) consciência do corpo, (c) regulação emocional e (d) mudança de perspectiva sobre o eu.

O instituto *Breathworks*, na Inglaterra, desenvolveu um programa baseado no modelo biopsicossocial com abordagens da atenção plena para o manejo da dor e da doença. Burch e Penman defendem que as técnicas podem auxiliar o praticante a reagir de modo construtivo à sensação dolorosa ao considerar que os aspectos biológicos, sociais e psicológicos afetam diretamente a percepção e a forma com que a pessoa lida com a dor ou qualquer condição crônica (Burch and Penman 2013).

Vários estudos apontaram o cultivo de *mindfulness* como um modelo eficaz para o tratamento psicoterapêutico diante da experiência da dor crônica, sugerindo as IBMs no contexto de um modelo prático e possível para conceituar e tratar a dor (Baer 2003, Kozak 2008, Morone, Lynch et al. 2008, Schütze, Rees et al. 2010). O

cultivo das práticas permite conhecer e compreender o mundo interno e externo com mais clareza, o que facilita atitudes mais sábias na decisão de transformar o que precisa ser transformado (Williams and Penman 2015). Trata-se de um estado ou característica da mente humana que pode ser (re) adquirido ou aprimorado e é uma condição presente em todas as pessoas (Demarzo M 2015).

## **2 | DOR: UMA REALIDADE PREVALENTE NA SAÚDE DO TRABALHADOR DE ENFERMAGEM**

A dor pode ser definida como experiência sensorial e emocional desagradável, decorrente da lesão real ou potencial dos tecidos do organismo. Trata-se de uma manifestação subjetiva, variando de indivíduo para indivíduo. Conforme a *International Association for the Study of Pain*, (IASP), sentir dor envolve mecanismos multidimensionais, como o afetivo-emocional, sensorial-discriminativo e avaliativo-cognitivo (Leite, Merighi et al. 2007, Bourke 2014). As experiências prévias, cultura e crenças também podem influenciar na percepção subjetiva do processo da dor (MMMJ. 1999).

Estudos apontam que a dor tende a aumentar os níveis de vigilância sobre a sensação desagradável, comprometendo a atenção para as outras atividades (Helm 2002), resultando na redução do desempenho em atividades rotineiras e aumento índices de absenteísmos que têm sido alarmantes, conseqüentemente ocorre um comprometimento da efetividade no trabalho (Van Leeuwen, Blyth et al. 2006), na qualidade de vida como um todo.

No caso da sensação da dor, desencadeiam-se padrões de pensamentos, sentimentos e comportamentos que, muitas vezes, são negativos e nocivos, porém, difíceis de evitar (Williams and Penman 2015). Grande parte do que o corpo sente é influenciado pelos pensamentos e emoções. Da mesma forma, tudo o que se pensa é refletido pelo que está ocorrendo no corpo.

A dor é o sintoma mais prevalente em indivíduos com distúrbios musculoesqueléticos (DMEs) causados por esforços excessivos e recorrentes. Esses sintomas são comuns entre profissionais de saúde em todo o mundo, sendo altamente prevalentes na categoria de enfermagem. A alta exigência física e psicossocial no ambiente laboral e não laboral aumentam as chances de desenvolver desconfortos musculoesqueléticos em algumas partes do corpo (Lelis, Battaus et al. 2012).

Em estudo multicêntrico envolvendo cerca de 12 mil profissionais de diversas áreas, o pessoal de enfermagem foi o grupo que apresentou maior prevalência de DME (Coggon, Ntani et al. 2012). No Brasil, a prevalência de DME entre profissionais

da enfermagem é estimada entre 43% e 93% (Gurgueira and Alexandre 2003).

O profissional da enfermagem, estando nesta condição, necessita, muitas vezes, fazer escolhas como cuidar-se ou cuidar do seu próximo, situação incompatível que pode gerar sofrimento (Lunardi, Lunardi Filho et al. 2004). No Brasil, apesar da crescente expansão, estudos avaliando o impacto das IBMs na dor crônica da categoria da enfermagem ainda são considerados incipientes.

### **3 | PROGRAMA ADAPTADO DE MINDFULNESS (PAM) PARA O MANEJO DA DOR NO CONTEXTO DA ENFERMAGEM EM ÂMBITO HOSPITALAR**

As diretrizes para a estruturação dos programas baseados em *mindfulness*, ressaltam a necessidade de inovações nas pesquisas por meio de implementação de protocolos adaptados que atendam às demandas, vulnerabilidades e necessidades de populações específicas (Crane, Brewer et al. 2017).

Considerando a realidade da enfermagem no âmbito hospitalar, o PAM baseou-se nos programas originais MBSR (Kabat-Zinn and Hanh 2009) e MBPM (Burch and Penman 2013). Ambos consistem em encontros semanais por oito semanas, variando de duas a duas horas e meia para cada sessão e prática diária por 45 minutos.

Os encontros foram facilitados por uma instrutora certificada e ocorreram nas dependências do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HCFMUSP. Participaram do estudo 64 mulheres, auxiliares e técnicas de enfermagem com queixas osteomusculares e idade média de 47 anos ( $DP \pm 9,5$ ).

Este estudo fez parte da dissertação de mestrado (Lopes 2017) cujos resultados quantitativos foram publicados na revista *Pain Management Nursing* (Lopes, Vannucchi et al. 2019) e aqui serão apresentados os resultados qualitativos preliminares.

O PAM consistiu em oito encontros semanais, com redução do tempo de cada sessão para uma hora e respeitando um limite de até sete participantes por grupo. O tempo para as práticas individuais em casa foi reduzido de 45 para 20 minutos (Carmody and Baer 2009, Klatt, Buckworth et al. 2009). Essas adaptações foram necessárias devido à rotina de trabalho no hospital e ao cotidiano das envolvidas na pesquisa (Zeidan, Martucci et al. 2011).

O programa teve o enfoque no manejo da dor, com abordagens de regulação atencional, consciência corporal, regulação emocional para o manejo da dor e o autocuidado por meio das técnicas meditativas e processo de psicoeducação. As participantes experimentaram práticas de atenção e consciência nas sensações corporais como na respiração, “escaneamento” do corpo (*body scan*), caminhada meditativa, movimentos conscientes com posturas de *Yoga* e *Pilates* nas posições

sentada, em pé e deitada, e cultivo da bondade amorosa ou compaixão consigo e com o outro. Durante os encontros, dinâmicas em grupo foram inseridas para facilitar aspectos de conceituação da atenção plena e melhor compreensão sobre regulação emocional, percepção e manejo das sensações agradáveis e desagradáveis, funcionamento da mente, manejo dos pensamentos e educação sobre a dor (Burch 2011, Louw, Diener et al. 2011, Andersen and Vægter 2016).

A cada semana, as participantes foram incentivadas a manter a prática diária da meditação individualmente, em casa, durante 20 minutos, utilizando o recurso de áudios para as práticas. As participantes também foram instruídas a cultivar a mente no momento presente como prática informal durante suas atividades rotineiras.

#### **4 | MODELO DE ANÁLISE QUALITATIVA E ALGUNS RESULTADOS DA PERCEPÇÃO DAS TRABALHADORAS APÓS O PAM (T1 E T2)**

Para a produção dos dados qualitativos, foram coletados relatos em grupo ao final do PAM (T1), após 8 semanas de intervenção, com a pergunta “Como foi o programa para você”, e, a realização de sete entrevistas com questionário semiestruturado, três meses após o término do PAM (T2). Para as entrevistas foi adotada uma amostra intencional (Fontanella, Ricas et al. 2008) a fim de verificar qual foi o impacto do PAM na vida das participantes, bem como o aprendizado e a apropriação das práticas no cotidiano dos sujeitos, sem a presença de um instrutor.

Para o auxílio das análises temáticas foi utilizado o *software* NVIVO11® para a codificação e constituição das categorias. Para a ampliação da análise pelos sentidos atribuídos (semântica), foram produzidas duas nuvens de palavras – das quinze palavras mais frequentes – por meio da análise léxica para verificar se houve mudança nos termos mais salientados pelos participantes entre os momentos T1 e T2 do estudo. Conjuntamente, foram produzidos dois *clusters* de frequência de palavras nos relatos e entrevistas, apresentados pelas figuras 2 e 3. Para analisar os índices de similaridade da associação entre os termos mais citados no conteúdo das falas foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson (SA. 2005).

Nos relatos as palavras com maior frequência realçam as dores sentidas no corpo relacionadas à carga de trabalho e a importância do programa como um espaço de aprendizado para trabalhar o autocuidado e aumentar a qualidade no trabalho a partir da melhora da condição física.

Nas entrevistas as palavras com maior frequência realçam a importância dos momentos criados para a manutenção das práticas de autocuidado. A necessidade da extensão do programa com a participação da chefia como compromisso para

trabalhar o problema do adoecimento no ambiente de trabalho, em que o cuidar de si antecede o cuidado do outro (Figura 1).

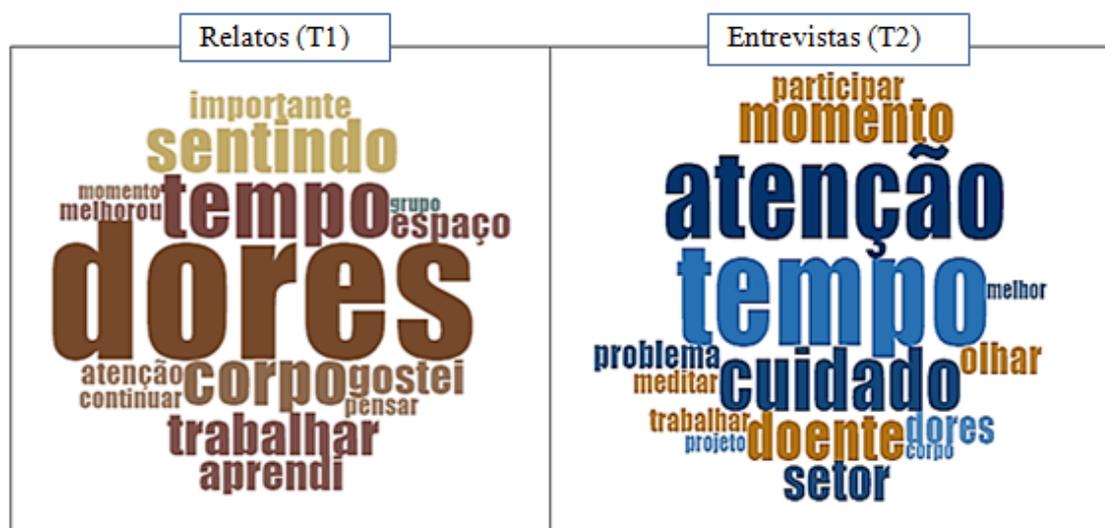


Figura 1 – Nuvens de frequência de palavras dos relatos (T1) e entrevistas (T2).

O diagrama por *cluster* de palavras dos relatos mais frequentes expressa em sua estrutura formada por duas subclasses, conjuntos de associações que demonstram similaridade positiva entre os coeficientes 0,6 (moderada) e 0,7 (forte) nas duas importantes relações: a) o refletir sobre a dor associado ao conhecer e cuidar do corpo pelas intervenções propostas pelo PAM em que aparecem também a importância de um espaço próprio que promova aprendizado por meio das trocas entre os profissionais (0,7); b) a apropriação da atenção plena no dia a dia promovendo a melhora na dor, no sono e na qualidade de vida, em que aparecem também a manutenção das práticas melhora da consciência corporal, melhor manejo da dor, manutenção das práticas e sugestões para a continuidade do programa (0,6) (Figura 2).

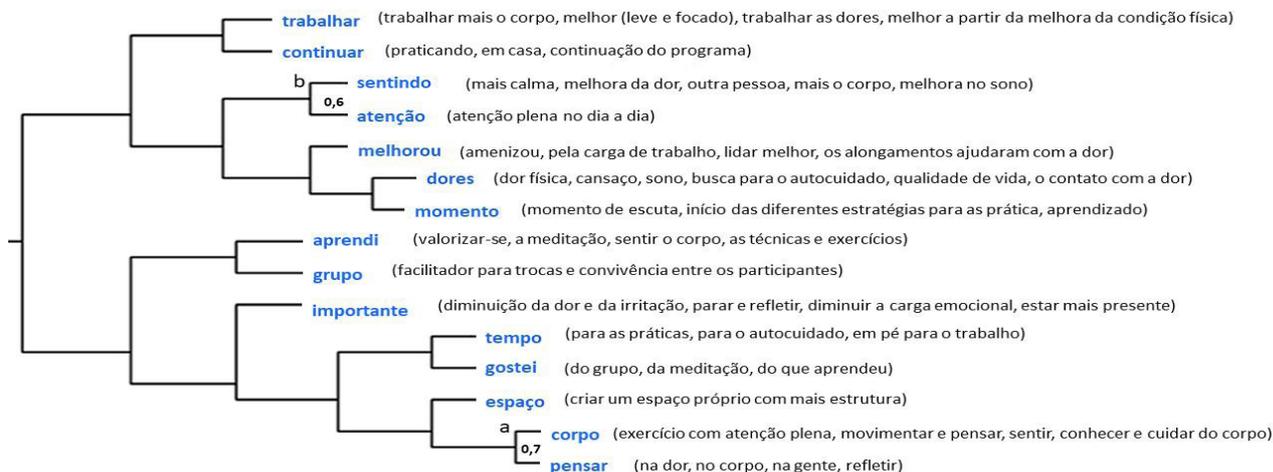


Figura 2 – Diagrama dos relatos por Cluster com agrupamento das quinze palavras mais frequentes. Índice de similaridade indicado pelo valor de 0 a 1 (índice de correlação de Pearson). Considerado:  $\geq 0,9$  muito forte; 0,7 a 0,9 forte; 0,5 a 0,7 moderada; 0,3 a 0,5 fraca; 0 a 0,3 desprezível.

O diagrama por *cluster* de palavras das entrevistas expressa em sua estrutura formada por quatro subclasses que variam entre 0,6 e 0,9; indicando índices de associação de similaridades com forças positivas entre moderada e muito forte: a) há melhora e alívio das dores provenientes da carga de trabalho (0,6), resultando na melhora da qualidade de trabalho e da qualidade de vida. Ressalta-se a importância de se assumir o compromisso da chefia na a continuidade do programa como proposta para o cuidado dos profissionais e diminuição do adoecimento no ambiente do trabalho (0,8); b) projeto direcionado ao cuidado físico e emocional do trabalhador que proporciona mudança do olhar para si e para o entorno como forma de reflexão dos problemas físicos e psicológicos relacionados aos setores de trabalho (0,9) e menos negligência diante da condição da dor (0,7). A meditação é relatada como recurso possível de ser inserido no cotidiano das participantes, proporcionando a melhora da condição física ao conhecer mais o corpo, ganho da consciência corporal e reflexão sobre a negligência da dor (0,8); c) O tempo para as práticas para o cuidado de si mediante um perfil da categoria profissional de assumir cuidados em tempo integral tanto dentro quanto fora do ambiente de trabalho (0,6); d) a apropriação das práticas da atenção plena resultando em maior atenção, relaxamento e foco nas atividades (0,8). Ressalta-se a necessidade da extensão e manutenção do programa com a participação e anuência da chefia (0,7) (Figura 3).

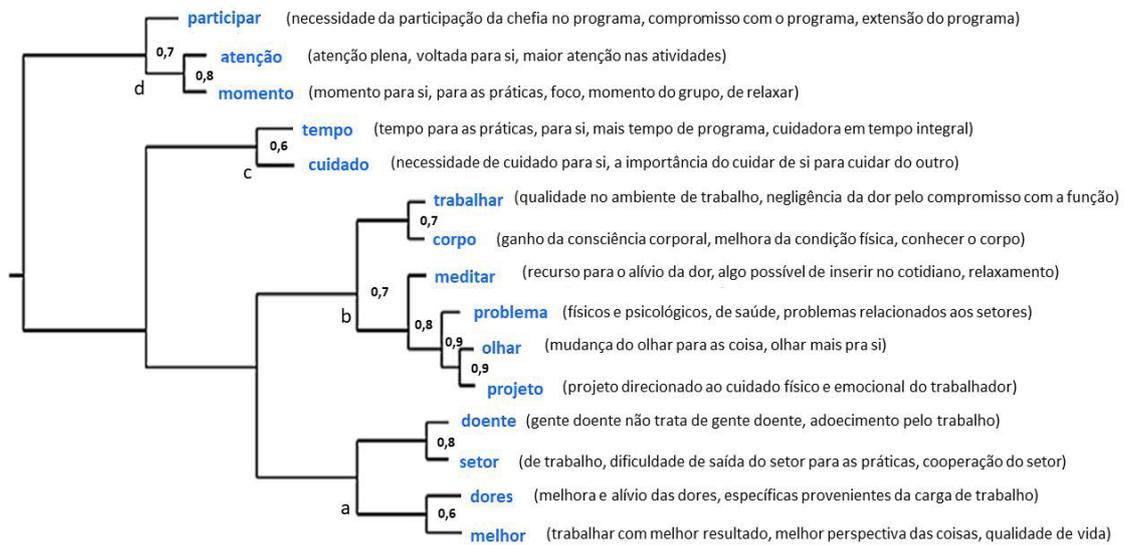


Figura 3 – Diagrama das entrevistas por Cluster com agrupamento das quinze palavras mais frequentes. Índice de similaridade indicado pelo valor de 0 a 1 (índice de correlação de Pearson). Considerado:  $\geq 0,9$  muito forte; 0,7 a 0,9 forte; 0,5 a 0,7 moderada; 0,3 a 0,5 fraca; 0 a 0,3 desprezível.

A análise de conteúdo temático-categorial dos dados produzidos pelos relatos logo após a intervenção (T1), produziu seis unidades de significação, constituindo duas categorias temáticas: desafios encontrados no percurso do PAM e benefícios atingidos com o programa. A análise de conteúdo temático-categorial das entrevistas, realizadas três meses após o término do PAM (T2), com sete participantes, produziu seis unidades de significação, constituindo duas categorias temáticas: características que dificultaram e facilitaram as práticas e benefícios mantidos com o programa (Tabela 1). Por fim, algumas considerações das participantes para a continuidade do programa.

RELATOS (T1)	Nº de participantes
<b>Desafios encontrados no percurso do PAM</b>	
Carga física e emocional do trabalho	7
Desafios para a participação no PAM	6
<b>Benefícios atingidos com o programa</b>	
Aspectos físicos e emocionais da dor: manejos e mudanças	14
Apropriação da atenção plena e a importância do autocuidado	15
Estratégias adotadas para as práticas de <i>mindfulness</i>	10
Mudanças relacionadas à qualidade de vida	18
ENTREVISTAS (T2)	Nº de participantes
<b>Características que dificultaram e facilitaram as práticas</b>	
Dificuldades para adesão e manutenção das práticas	5
Facilidades para adesão e manutenção das práticas	5
<b>Benefícios mantidos com o programa</b>	
Aspectos físicos e emocionais da dor: manejo e mudanças	7
Apropriação da atenção plena e a importância do autocuidado	7
Estratégias adotadas para as práticas de <i>mindfulness</i>	6
Mudanças relacionadas à qualidade de vida	6

Tabela 1 – Categorias temáticas em dois momentos do estudo (T1 e T2)

## 5 | ACHADOS RELEVANTES PARA UMA DISCUSSÃO SOBRE A SAÚDE DAS TRABALHADORAS DE ENFERMAGEM HOSPITALAR

Os resultados qualitativos deste estudo apontaram benefícios nos aspectos físicos e emocionais da dor, melhora da percepção da qualidade de vida e um repensar sobre a necessidade do cuidar de si com estratégias, dentro da realidade subjetiva das participantes para a inserção das práticas no cotidiano. Ainda, o impacto positivo dos resultados se manteve após 12 semanas após o programa, indicando o efeito sustentado das práticas.

Neste estudo, o público foi exclusivamente feminino com queixas de dores musculoesqueléticas há mais de seis meses. A característica multitarefa atribuída a estas mulheres pode levar a uma atitude de resignação da própria dor, com riscos de afetar negativamente a funcionalidade das tarefas desempenhadas tanto dentro, quanto fora do ambiente laboral (Lago and Codo 2013).

A sobrecarga de trabalho da categoria mediante as demandas que caracterizam o exercício da profissão surge realçando o desafio para participação do programa.

*“(...) durante o período de serviço não dá para sair, principalmente por causa da demanda de outros pacientes e você tem muitas coisas pra fazer, então só aquele período que você fica fora você tem muita coisa pendente, então não tem funcionário suficiente pra te cobrir naquele período de 30 ou 40 minutos, não tem”* (Relato).

Aprender em grupo significou para algumas participantes uma ação educativa,

com possibilidade de trocas de experiências e aprendizagem. Desta maneira, a aprendizagem nessa perspectiva é a capacidade de compreensão e de ação transformadora de uma realidade. Isso envolve mudanças e pressupõe que elas ocorram nas pessoas articuladas entre si, no contexto em que elas se inserem (Lago and Codo 2013).

*“Pra mim foi o máximo, antes eu achava que só eu que tenho dor, mas a partir do momento que eu comecei a meditar tive assim uma aceitação aí eu comecei a ver o que seria melhor, como eu sentiria através da meditação, aí eu me entreguei à meditação” (Entrevista).*

*“(...) a gente aprendeu muitas coisas aqui, encontrei novas colegas participando que eu não conhecia e, de repente, não era só eu que sentia essas dores, tinha mais colegas nessa situação (...)” (Entrevista).*

Essa é a relevância da interação dialógica entre o pesquisador e o seu contexto de investigação, na medida em que se estabelece um grau de aproximação e vínculo, possibilitando a partilha e o aprendizado mútuo com o intento de transformar a realidade social encontrada (Gonçalves, da Damatta 1981, Chao, Henshaw et al. 2009).

*“A (nome da instrutora) é uma pessoa que cativa a gente fácil, o jeito dela, o cuidado que ela tem com a gente, então, isso faz com que a gente venha aderir mais rápido o programa. Acho que o jeito que você aborda a pessoa você vai ter o sim ou o não, então o carinho, a atenção dela, o cuidado dela com cada uma de nós faz com que a gente tenha mais vontade de aderir ao programa” (Entrevista).*

A maioria dos sujeitos da pesquisa (91%) relatou o uso de analgésicos e anti-inflamatórios (25%) antes do programa de iniciar o PAM. A temática “benefícios atingidos (T1) e mantidos (T2) com o programa” traz falas sobre o manejo da dor, redução dos sintomas e do uso de medicamentos após vivenciar as práticas de *mindfulness* (T1 e T2). Também há menção da busca por um repensar para o autocuidado, com melhora da consciência corporal incorporando exercícios físicos, maior respeito aos limites físicos e melhora na qualidade de vida.

*“A minha qualidade de vida tá bem melhor. Essa minha perna eu falei uma vez que parece que tava podre de tanto que sentia dor no osso, não tava aguentando e depois que comecei fazer os alongamentos que ela ensinou, essas terapias, ficar deitada com as pernas na cadeira, tem resolvido muito. E eu tenho diminuído até os medicamentos, eu tava tomando tramal direto” (Relato).*

*“É meio difícil você amar alguém sem se amar, eu acho que o cuidado é o mesmo. Então é o cuidado com você. Entender, conhecer você, é isso que faz a diferença. Se você se conhece, você conhece os seus limites, se cuida, se protege” (Entrevista).*

As práticas de *mindfulness* são autodirecionadas e autorreguladas e, quando inseridas no cotidiano, podem mudar o estilo de vida, com efeitos benéficos na saúde em geral. Em relação à dor crônica, o benefício pode ocorrer quando o praticante ressignifica o sintoma. O indivíduo passa a lidar com a dor, de modo atento às suas

reações, com resposta consciente (Bush and Goleman 2013, Demarzo M 2015). A pessoa tende a tornar o estresse da dor em desafio, deixando de senti-lo como ameaça, podendo romper o ciclo da dor.

*“Melhorou bastante, assim, em vista do que eu tinha antes, a meditação ajudou bastante a me controlar, às vezes quando eu estava com dor eu ficava, ai meu Deus eu to com dor! Eu ficava focada naquilo, eu to com dor, eu to com dor e começava andar pra lá e pra cá e eu já queria tomar o remédio e aquilo não passava e aquilo começava a me deixar angustiada” (Entrevista).*

Evidências indicam que *mindfulness* envolve múltiplos mecanismos cerebrais que alteram a construção da experiência subjetiva de dor a partir de informações aferentes (Zeidan, Martucci et al. 2011). Os estímulos nocivos iniciam uma série de alterações fisiológicas e neurofisiológicas que são maleáveis e sujeitos a modificações no corpo. A meditação e a dor alteram as dimensões sensoriais, cognitivas e afetivas de nossa experiência subjetiva (Koyama, McHaffie et al. 2005, Cahn and Polich 2006).

A experiência de dor intensa ou duradoura ao estabelecer uma percepção perniciosa, pode reduzir a atividade física, resultando em sensação catastrófica de incapacidade, desamparo e falta de confiança no manejo ou enfrentamento do sintoma, o que contribui para o desenvolvimento de depressão ou ansiedade (Fernandez, Colodro-Conde et al. 2017).

Houve casos em que a percepção de pontos de dor ou tensão no corpo, até então desconhecidos, emergiram durante as práticas. Fato este que pode estar relacionado com a melhora da consciência corporal expressada em algumas falas durante os relatos e entrevistas.

*“Eu acho que aprendi bastante a meditar, sentar um pouquinho, parar, ouvir a minha voz a voz do corpo” (Relato).*

*“(...) mais do que relaxar, era um momento de me conhecer, conhecer principalmente meu limite. A gente trabalha muito com a dor aqui dentro [no hospital] e você acaba se habituando com a dor, né, e aí você conhecendo o seu limite, você se segura e se protege” (Entrevista).*

Sendo assim, as profissionais de enfermagem no presente estudo, ao realizarem o PAM, aumentaram a tolerância e diminuíram a sensibilidade perceptiva para dor crônica musculoesquelética, utilizando o relaxamento como uma das ferramentas (Wachholtz and Pearce 2009). Seligman (Seligman 2002) sugere que a capacidade de controlar um evento aversivo como a dor pode reduzir a ansiedade. (Hofmann, Sawyer et al. 2010, Zeidan, Martucci et al. 2011). Assim, foi possível apreender a relevância de um estudo que estimulasse a criação de um espaço de cuidado, considerando a sugestão advinda dos próprios participantes, mediante a dificuldade de liberação para a continuidade dos encontros fora do horário de trabalho:

*“Mas eu gostei, eu preferi vir fora do horário, até para me dedicar mais, para eu ficar mais concentrada porque dentro do horário, você está lá [no local de realização da prática], mas está difícil sair no horário de trabalho. Se você tem responsabilidade, você tem um monte de coisa, daí você fica olhando o relógio, você não se entrega 100%. Então eu prefiro ir fora do horário [de trabalho], por conta disso” (Relato).*

O relato abaixo revela a percepção da dor além dos aspectos físicos, modificação de postura da participante, que deixa de salientar a dor para realçar a atenção, tempo e cuidado para si e mudanças no estilo de vida. Esses dados corroboram com os depoimentos sobre a melhora nos aspectos físicos e o impacto do estresse no processo com um repensar mais empático e compassivo consigo mesma e com outros.

*“(…) Depois que eu comecei a fazer a meditação, eu comecei a sentir melhoras nas minhas dores, tanto nas dores físicas, quanto no sentido do estresse que a gente tem também no dia-a-dia, em relação à chefia, ao paciente” (Relato).*

*“Olha, é assim, como eu também iniciei academia, as dores lombares, eu achei que melhorou mais, né. Eu não sinto mais” (Relato).*

*“Assim, nos traz, um alívio diferente porque começamos a nos tratar de dentro pra fora através do pensamento, assim, buscando mais mesmo. Quando vocês falam pra nós assim: vá até a tua dor com o pensamento, mentaliza o local que tá doendo, é como se fosse um trabalho, a gente sente o alívio, sente-se melhor. Então é uma proposta muito interessante porque não nos percebemos que a cura tá dentro da gente mesma” (Relato).*

*“(…) mudei minha alimentação, fui pra academia e levo sempre comigo tudo o que ela ensinou pra gente (...)” (Entrevista).*

Conforme Neff (Neff 2003), o incremento da autocompaixão é um forte preditor de saúde mental e de bem-estar, estando positivamente relacionado com a satisfação com a vida, com a sabedoria e iniciativa pessoal, otimismo, conscienciosidade, cuidado, bondade, atitude positiva e calorosa diante de aspectos desagradáveis inerentes à condição humana, como a dor (Neves, Cunha et al. 2011).

A importância da continuidade do PAM, como um espaço de partilha e aprendizado entre pessoas com interesses comuns foi salientada por algumas participantes.

*“Eu tenho muita, muita, muita esperança que esse programa conscientize os nossos responsáveis. Eu gostaria que ele fosse um tiro certo. Ele tem uma meta para ser alcançada com começo meio e fim. Porque, pra mim, gente doente não pode cuidar de doente. Se a gente tiver menos gente doente, a gente tem mais funcionário trabalhando” (Entrevista).*

*“Eu acredito que o programa é algo muito bom e que deveria ser levado pra todos os níveis da instituição, além de ser um programa de fácil adesão dos funcionários, não tem custo. Não tem um espaço assim que a pessoa pode aprender e fazer em casa, em qualquer lugar que ela esteja só. Acho que precisa de um pouco mais de boa vontade dos líderes” (Entrevista).*

Os achados são concordantes com os de Silva *et al.* (da Silva, Baptista et al.

2013), Chao e Henshaw (Chao, Henshaw et al. 2009), reforçando a necessidade de um repensar sobre desenvolvimento e implementação de estratégias para o manejo da dor e conseqüente sofrimento do trabalhador no ambiente de trabalho.

As análises qualitativas dos relatos (T1) e entrevistas (T2) apontaram benefícios na dor e na qualidade de vida e um repensar sobre a necessidade do cuidar de si com estratégias, dentro da realidade subjetiva, para a inserção das práticas no cotidiano sugerindo a continuidade do PAM como ação factível e eficaz para a categoria estudada.

## 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados qualitativos apresentados neste artigo apontam que o PAM, contribuiu, como abordagem factível e eficaz, para a redução dos sintomas físicos e emocionais da dor e melhora da qualidade de vida do público estudado. O espaço de aprendizado e de trocas facilitou o despertar para a necessidade de um olhar para si com a adoção de estratégias de autocuidado que se mantiveram após três meses de intervenção.

Esperamos que outros estudos, com temáticas e contextos semelhantes, possam avaliar a eficácia das IBMs para o manejo da dor na Saúde do trabalhador da Enfermagem com a intenção genuína de minimizar o cenário de adoecimento desta categoria que tanto se dedica ao cuidado do seu próximo.

## REFERÊNCIAS

Andersen, T. E. and H. B. Vægter (2016). **“A 13-weeks mindfulness based pain management program improves psychological distress in patients with chronic pain compared with waiting list controls.”** Clinical practice and epidemiology in mental health: CP & EMH 12: 49.

Baer, R. A. (2003). **“Mindfulness training as a clinical intervention: A conceptual and empirical review.”** Clinical psychology: Science and practice 10(2): 125-143.

Bourke, J. (2014). **The Story of Pain: From Prayer to Painkillers**, Oxford University Press.

Brasil, M. (2006). **“Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica.”** Política Nacional da Atenção Básica. Brasília, Serie Pactos pela Saúde 4.

Burch, V. (2011). **“Viva bem com a dor e a doença: método da atenção plena.”** São Paulo: Sommus.

Burch, V. and D. Penman (2013). **Mindfulness for health: a practical guide to relieving pain, reducing stress and restoring wellbeing**, Hachette UK.

Bush, M. and D. Goleman (2013). **“Working with mindfulness: mindfulness, work, and stress reduction: a conversation.”**

Cahn, B. R. and J. Polich (2006). **“Meditation states and traits: EEG, ERP, and neuroimaging studies.”** Psychological bulletin **132**(2): 180.

Carmody, J. and R. A. Baer (2009). **“How long does a mindfulness-based stress reduction program need to be? A review of class contact hours and effect sizes for psychological distress.”** J Clin Psychol **65**(6): 627-638.

Cebolla A, C. J., Demarzo M (2014). **“Mindfulness y Ciencia.”** Alianza Editorial.

Chao, E., et al. (2009). **“Guidelines for Nursing Homes Ergonomics for the Prevention of Musculoskeletal Disorders.”** Occupational Safety and Health Administration, US Department of Labor Pub No OSHA.

Coggon, D., et al. (2012). **“The CUPID (Cultural and Psychosocial Influences on Disability) study: methods of data collection and characteristics of study sample.”** PLoS One **7**(7): e39820.

Crane, R., et al. (2017). **“What defines mindfulness-based programs? The warp and the weft.”** Psychol Med **47**(6): 990-999.

da Damatta, R. (1981). **“Relativizando uma introdução à antropologia social.”** Digressão: A fábula das três raças, ou o problema do Racismo à Brasileira.

da Silva, S. M., et al. (2013). **“Estratégias de intervenção relativas à saúde dos trabalhadores de enfermagem de hospitais universitários no Brasil.”** Revista latino-americana de enfermagem **21**(1): 300-308.

Demarzo M, C. J. (2015). **“Manual Prático Mindfulness. Curiosidade e Aceitação.”** Palas Athena.

Fernandez, M., et al. (2017). **“Chronic low back pain and the risk of depression or anxiety symptoms: insights from a longitudinal twin study.”** The Spine Journal **17**(7): 905-912.

Fontanella, B. J. B., et al. (2008). **“Amostragem por saturação em pesquisas qualitativas em saúde: contribuições teóricas.”** Cadernos de saúde pública **24**: 17-27.

Gonçalves, A. A. O. **“FREIRE, Paulo. Pedagogia da autonomia: saberes necessários à prática educativa”.** São Paulo: Paz e Terra, 2010. Coleção Leitura.” Observatorium: Revista Eletrônica de Geografia **3**(8).

Gurgueira, G. P. and N. M. C. Alexandre (2003). **“Prevalência de sintomas músculo-esqueléticos em trabalhadoras de enfermagem.”** Revista latino-americana de enfermagem.

Helm, B. W. (2002). **“Felt evaluations: A theory of pleasure and pain.”** American Philosophical Quarterly **39**(1): 13-30.

Hofmann, S. G., et al. (2010). **“The effect of mindfulness-based therapy on anxiety and depression: A meta-analytic review.”** J Consult Clin Psychol **78**(2): 169.

Hölzel, B., et al. **“How does mindfulness meditation work.”** Proposing mechanisms of action from a conceptual and neural perspective: 537-559.

Kabat-Zinn, J. (1982). **“An outpatient program in behavioral medicine for chronic pain patients based on the practice of mindfulness meditation: theoretical considerations and preliminary results.”** Gen Hosp Psychiatry **4**(1): 33-47.

Kabat-Zinn, J. and T. N. Hanh (2009). **Full catastrophe living: Using the wisdom of your body and mind to face stress, pain, and illness,** Delta.

Klatt, M. D., et al. (2009). **“Effects of low-dose mindfulness-based stress reduction (MBSR-Id) on working adults.”** Health Education & Behavior **36**(3): 601-614.

Koyama, T., et al. (2005). **“The subjective experience of pain: where expectations become reality.”** Proceedings of the National Academy of Sciences **102**(36): 12950-12955.

Kozak, A. (2008). **“Mindfulness in the management of chronic pain: conceptual and clinical considerations.”** Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management **12**(2): 115-118.

Lago, K. and W. Codo (2013). **Fadiga por compaixão: o sofrimento dos profissionais em saúde**, Petrópolis: Vozes.

Leite, P. C., et al. (2007). **“The experience of a woman working in nursing suffering from De Quervain’s disease.”** Revista latino-americana de enfermagem **15**(2): 253-258.

Lelis, C. M., et al. (2012). **“Distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho em profissionais de enfermagem: revisão integrativa da literatura.”** Acta paulista de enfermagem **25**(3): 477-482.

Lopes, S. A. (2017). **Mindfulness e dor nos distúrbios osteomusculares: uma experiência com auxiliares e técnicos de enfermagem**, Universidade de São Paulo.

Lopes, S. A., et al. (2019). **“Effectiveness of a mindfulness-based intervention in the management of musculoskeletal pain in nursing workers.”** Pain Management Nursing **20**(1): 32-38.

Louw, A., et al. (2011). **“The effect of neuroscience education on pain, disability, anxiety, and stress in chronic musculoskeletal pain.”** Archives of physical medicine and rehabilitation **92**(12): 2041-2056.

Lunardi, V. L., et al. (2004). **“O cuidado de si como condição para o cuidado dos outros na prática de saúde.”**

MMMJ., C. (1999). **“Dor: um estudo multidisciplinar.”** Summus Editorial

Morone, N. E., et al. (2008). **““I felt like a new person.” The effects of mindfulness meditation on older adults with chronic pain: qualitative narrative analysis of diary entries.”** The Journal of Pain **9**(9): 841-848.

Neff, K. D. (2003). **“The development and validation of a scale to measure self-compassion.”** Self and identity **2**(3): 223-250.

Neves, C. S. S., et al. (2011). **A relação entre Mindfulness, Auto-Compaixão, Vergonha e Psicopatologia em praticantes e não praticantes de Meditação/Yoga**, ISMT.

SA., M. (2005). **“Análise de Agrupamentos (Cluster).” Análise de Dados através de Métodos de Estatística Multivariada: uma abordagem aplicada**. Belo Horizonte: Ed. UFMG.

Schütze, R., et al. (2010). **“Low mindfulness predicts pain catastrophizing in a fear-avoidance model of chronic pain.”** Pain **148**(1): 120-127.

Seligman, M. E. P. (2002). **Authentic Happiness: Using the New Positive Psychology to Realize Your Potential for Lasting Fulfillment**, Free Press.

van Leeuwen, M. T., et al. (2006). **“Chronic pain and reduced work effectiveness: the hidden cost to Australian employers.”** European Journal of Pain **10**(2): 161-161.

Wachholtz, A. B. and M. J. Pearce (2009). “**Does spirituality as a coping mechanism help or hinder coping with chronic pain?**” *Current Pain and Headache Reports* **13**(2): 127-132.

Williams, M. and D. Penman (2015). **Atenção plena–Mindfulness: Como encontrar a paz em um mundo frenético**, Sextante.

Zeidan, F., et al. (2011). “**Brain mechanisms supporting the modulation of pain by mindfulness meditation.**” *Journal of Neuroscience* **31**(14): 5540-5548.

## ESPIRITUALIDADE DOS ESTUDANTES DE MEDICINA: ASSOCIAÇÕES COM EMPATIA E ATITUDE NA RELAÇÃO MÉDICO-PACIENTE

Data de aceite: 19/11/2018

**Julianni Bernardelli Lacombe**

Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Estado de Minas Gerais, Brasil.

**RESUMO:** Na atualidade tem se considerado relevante e oportuno estudar os fatores que contribuem para a melhoria das relações interpessoais no contexto da assistência ao paciente e educação médica. Compreender os preditores em relação à empatia e a atitude do interno de Medicina e do jovem médico é tema em destaque na formação dos profissionais de saúde, no desempenho acadêmico e profissional. A espiritualidade tem sido apontada como tema importante, tanto pelos pacientes como pelos graduandos em Medicina, porém ainda pouco abordada nas escolas médicas. Sendo assim, a espiritualidade, religiosidade e crenças dos estudantes e jovens médicos podem contribuir para uma melhor qualidade da prática na educação médica e na relação médico paciente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Espiritualidade; Empatia; Educação Médica; Estudantes de Medicina; Relação médico-paciente

### SPIRITUALITY IN MEDICAL INTERNS AND RESIDENTS: ASSOCIATION WITH EMPATHY AND ATTITUDE IN THE DOCTOR-PATIENT RELATIONSHIP

Nas últimas décadas, tem havido uma ampla preocupação com a re-humanização da medicina. A influência flexneriana (PAGLIOSA; ROS; AURELIO, 2008) e o conhecimento técnico-científico permitiram inegáveis e importantes avanços na medicina, mas a dimensão humana do médico esvanecia-se (GALLIAN, 2001). Na educação médica, o estudante é exposto desde muito cedo em sua formação à alta tecnologia em detrimento do lado humanístico e filosófico da medicina (CRISTINA et al., 2007). A empatia na relação médico-paciente, a atitude centrada na pessoa e a formação de um médico humanista são atributos profissionais em destaque na humanização da medicina e recomendados por documentos nacionais e internacionais (Diretrizes Curriculares Nacionais (DCN) do Curso de Graduação em Medicina (BRASIL, 2014) e “Médicos para o século XXI” da *Association of American Medical Colleges*

(AAMC) (INSTITUTE OF MEDICINE (US) COMMITTEE ON QUALITY OF HEALTH CARE IN AMERICA, 2001) como sendo habilidades essenciais na formação médica.

Empatia no contexto da assistência ao paciente é definida como um “ atributo predominantemente cognitivo que envolve uma compreensão das experiências, preocupações e perspectivas dos pacientes, combinada com a capacidade de comunicar essa compreensão e a intenção de ajudar (terapêutica) ” (HOJAT, 2007; KATAOKA et al., 2009). Maiores níveis de empatia percebida pelos pacientes têm correlação positiva com satisfação geral em seus médicos, confiança interpessoal e maior adesão ao tratamento (HOJAT et al., 2010), inclusive com resultados clínicos positivos (HOJAT et al., 2011). Segundo a percepção do residente em medicina, menores níveis de empatia estão associados a maiores probabilidades de erros médicos (WEST et al., 2006). Nos estudantes de medicina, menores níveis de empatia foram associados a baixa qualidade de vida (PARO et al., 2014), níveis elevados de burnout (THOMAS et al., 2007) (BRAZEAU et al., 2010) e a depressão (THOMAS et al., 2007).

A medicina centrada no paciente constitui umas das metodologias propostas na humanização da medicina (RIBEIRO, 2008). Dois princípios compõem a medicina centrada no paciente: um se refere aos cuidados da pessoa, com reconhecimento de suas idéias e emoções sobre o adoecer e suas reações frente ao adoecimento; e o segundo refere-se ao compartilhamento de decisões e responsabilidades entre médicos e pacientes de acordo com objetivos comuns em relação à doença (STEWART et al., 2000). Tal prática proporciona, maior satisfação do médico e do paciente, redução dos efeitos adversos associados às prescrições, diminuição do número de reclamações pelo atendimento, redução no volume de exames diagnósticos complementares, menor frequência de encaminhamentos para especialistas e, por fim, menores custos para o sistema de saúde e para o paciente (LITTLE et al., 2001) (RIBEIRO, 2008) (STEWART et al., 2000).

Compreender os preditores em relação à empatia e a atitude do estudante e do jovem médico é tema em destaque na formação dos profissionais de saúde, no desempenho acadêmico e profissional. Estudos demonstram que estudantes de medicina que iniciam a graduação com empatia disposicional (tendência à preocupação empática) e perspectiva disposicional (tendência a reagir a outros tomando sua visão) apresentaram uma atitude positiva em relação à empatia nos encontros clínicos. Igualitarismo, autoestima global e bem-estar estão associados positivamente à empatia e atitude centrada no paciente (VAN RYN et al., 2014). Também há mudanças nos escores de empatia do estudante de Medicina ao longo do curso, e as mulheres expressaram níveis significativamente mais elevados de empatia (CHEN, 2012) assim como são mais centradas no paciente (KRUPAT et al., 1999). Os estudantes com maior empatia são frequentemente mais interessados

em campos relacionados à atenção primária (CHEN et al., 2007). A atitude centrada no paciente esteve positivamente associada a um interesse pela prática comunitária e primária e com questões psicossociais em estudantes em fases precoces do curso de Medicina (KRUPAT et al., 1999). Por fim, estudo recente demonstra que o significado da vida – como faceta da espiritualidade- está associado a maiores níveis de empatia em estudantes do curso médico (DAMIANO et al., 2017).

Debates de relevância científica ocorrem em torno das medidas que se propõem a avaliar o papel da espiritualidade em ambientes de cuidados em saúde. Alguns artigos fazem referência a empatia e espiritualidade no mesmo manuscrito e Medicina, a espiritualidade e empatia eram variáveis relacionadas (HULL; DILALLA; DORSEY, 2001) (DILALLA et al., 2004), e em dois estudos espiritualidade e empatia eram variáveis relacionadas (DILALLA et al., 2004) (DAMIANO et al., 2017). Os alunos que participaram de duas sessões de empatia e espiritualidade apresentaram níveis de empatia maiores em relação a outros grupos (DILALLA et al., 2004). Alguns estudos demonstram associações positivas entre sentimento de espiritualidade, cuidado e empatia (MARKSTROM et al., 2010). Desta forma, espiritualidade, religiosidade e crenças pessoais estão associadas com a empatia e centralidade no paciente.

Ainda, apenas uma pesquisa avaliou a associação de aspectos comportamentais e / ou cognitivos, como crenças pessoais, religiosas e espiritualidade com o nível de empatia dos estudantes de medicina (DAMIANO et al., 2017). A associação da espiritualidade, religiosidade e crenças pessoais com a empatia e com a atitude na prática clínica de estudantes e residentes do curso de Medicina foi tema de estudo nacional conduzido na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia (LACOMBE, 2017).

Este estudo avaliou a espiritualidade, crenças pessoais e religiosidade e sua associação com empatia e atitude de estudantes e residentes do curso de Medicina. A tomada de perspectiva e empatia geral, bem como compartilhar, prestação de cuidados e atitude centrada no paciente esteve associada de forma significativa com crenças pessoais, religiosidade e espiritualidade.

## **ESPIRITUALIDADE E EMPATIA**

Os níveis de empatia foram positivamente associados com crenças pessoais, religiosidade e espiritualidade (LACOMBE, 2017). Outros estudos encontraram associações positivas entre espiritualidade, cuidado e empatia (MARKSTROM et al., 2010) (BRADLEY, 2009).

O termo espiritualidade tem sido amplamente utilizado em vários idiomas,

relacionado ou não com tradições religiosas, mas ainda não existe uma definição plenamente satisfatória (GALL et al., 2011). Espiritualidade pode ser definida como “a busca pessoal pela compreensão de respostas para as perguntas fundamentais sobre a vida, o significado da vida e a relação com o sagrado ou o transcendente que pode (ou não) levar a ou originar-se do desenvolvimento de rituais religiosos e da formação da comunidade” (KOENIG, 2001). Empatia é um construto multidimensional com domínios cognitivos, emotivos e comportamentais. Empatia cognitiva, conceito utilizado na educação médica, refere-se à capacidade do indivíduo de compreender a perspectiva de outra pessoa sobre circunstâncias dele ou dela (HOJAT, 2007). Empatia emocional refere-se à preocupação do indivíduo para os sentimentos dos outros (WEST et al., 2006). O componente comportamental, envolve a expressão externa dessas qualidades internas para influenciar o encontro do paciente (THOMAS et al., 2007). Estudos anteriores retratam que burnout correlacionou-se inversamente com a empatia, ao mesmo tempo que bem-estar pessoal e qualidade de vida apresentaram correlação positiva com escores de empatia em estudantes de medicina (PARO et al., 2014) (THOMAS et al., 2007). Também, em publicação recente, a empatia na relação médico-paciente está associada a espiritualidade – sentido da vida - em uma amostra de estudantes (DAMIANO et al., 2017). Assim, alguns fatores como, bem-estar (BRAZEAU et al., 2010), depressão (PARO et al., 2014), burnout (BRAZEAU et al., 2010), têm um impacto nos níveis de empatia, o que nos reforça que a empatia não parece ter apenas uma dimensão cognitiva isolada.

O estudo expressou que a tomada de perspectiva da empatia- dimensão cognitiva- apresenta maior número de associações com a espiritualidade (LACOMBE, 2017). Indica que a dimensão cognitiva da empatia – capacidade de considerar a perspectiva de outra pessoa- (WEST et al., 2006) está associada a fatores ligados à espiritualidade do estudante e do jovem médico. Sinaliza que ter uma crença profunda, religiosa ou não, poderia dar um significado transcendental à vida e funcionar como estratégia para lidar com o sofrimento humano, a ponto de refletir em superior comportamento empático.

Também, a empatia esteve correlacionada de forma significativa com o envolvimento religioso. A espiritualidade, religiosidade e crenças pessoais foram preditoras de empatia também ao considerar o envolvimento religioso (LACOMBE, 2017). Em estudos anteriores, a religiosidade esteve associada a melhores resultados de saúde mental (KOENIG, 2009) (ABDALEATI; MOHD ZAHARIM; MYDIN, 2016), mas outros demonstram nenhuma associação entre crenças religiosas e empatia (SANTOS et al., 2016) (MARKSTROM et al., 2010). Religiosidade é o quanto um indivíduo acredita, segue e pratica uma religião. Pode ser organizacional (participação na igreja ou templo religioso) ou não organizacional (rezar, ler livros,

assistir programas religiosos na televisão) (KOENIG, 2001). Ter uma filiação religiosa ou envolvimento religioso, não teve a mesma associação com a empatia do que alguns domínios da espiritualidade.

Assim, alguns autores reforçam que a empatia pode ser aperfeiçoada através de atividades educacionais específicas (LA MONICA et al., 1976), outros defendem que a empatia é um traço da personalidade que não pode ser facilmente ensinado (LA MONICA et al., 1987) e que influencia nas habilidades interpessoais. De fato, algumas variáveis estão envolvidas com maiores escores de empatia dentre elas, sexo feminino (HOJAT, 2007)( KATAOKA et al., 2009), primeiros anos da graduação do curso de medicina (CHEN, 2012), médicos com atuação em especialidades médicas centrada na pessoa (HARSCH, 2014).

Nesse sentido, quando consideramos a educação médica e a abordagem da empatia, precisamos ampliar o foco e buscar outros fatores que influenciam o estudante e jovem médico no seu comportamento empático frente ao paciente. Atividades dentro da formação médica que estimulem o estudo da espiritualidade propicia o entendimento para o cuidado de si e autoconhecimento, condições essenciais para a formação de um profissional (REGINATO; BENEDETTO; GALLIAN, 2016) e pode representar um impacto na atuação – comportamento empático. Além disso, contribuem como mecanismo de enfrentamento do estresse, maior resiliência e qualidade de vida (KRÄGELOH et al., 2015a) para os próprios estudantes e residentes. Escolas de Medicina no Brasil e no mundo têm unido esforços para incluir o conteúdo espiritualidade no currículo médico (FORTIN, 2004) (LUCCHETTI et al., 2014) (LUCCHETTI et al., 2010).

## **ESPIRITUALIDADE E MEDICINA CENTRADA NO PACIENTE**

O estudo também ressalta que existe associação entre maiores escores de espiritualidade e um comportamento médico mais centrado no paciente, em uma amostra de estudantes e residentes de Medicina que estão em treinamento quanto às habilidades da prática clínica (LACOMBE, 2017). Se a empatia é um fator crítico na promoção do cuidado centrado no paciente (KOENIG, 2000) e, estudos indicam que a mesma está associada a espiritualidade (DILALLA et al., 2004) (DAMIANO et al., 2017), podemos dizer que a espiritualidade influencia na centralidade do cuidado. Pesquisas retratam que a espiritualidade e religiosidade do médico influenciam as decisões clínicas bem como a relação médico paciente (DAALEMAN, 2004).

A Medicina Centrada no Paciente representa um dos seis principais objetivos de um sistema de Saúde do Século XXI, de acordo com o *Institute of Medicine* (INSTITUTE OF MEDICINE (US) COMMITTEE ON QUALITY OF HEALTH CARE

IN AMERICA, 2001) e compreende as “qualidades de compaixão, empatia e responsividade às necessidades, valores e preferências dos pacientes de forma individual” (NEUMANN et al., 2011). Assim, a empatia é um atributo da Medicina Centrada no Paciente. Estudo recente anterior indica que há uma associação entre espiritualidade - sentido e propósito da vida - do estudante e melhor comportamento empático (DAMIANO et al., 2017) e, portanto, a espiritualidade pode estar associada à Medicina Centrada no Paciente.

Ao consideramos Espiritualidade e Medicina Centrada no paciente temos duas vertentes. A primeira, relaciona-se a vários estudos e recomendações da American Medical Association (AMA) (KOENIG, 2000) que reforçam que a abordagem dos valores associados a espiritualidade e crenças pessoais dos pacientes compõem um modelo de atenção mais integral, no sentido de abrangência não apenas das condições físicas, mas também da psicológica, social e espiritual. Assim, a integração da espiritualidade nos cuidados clínicos compõe uma Medicina mais Centrada no Paciente (PUCHALSKI, 2013). A espiritualidade do estudante e do jovem médico reflete em uma atitude mais centrada no paciente na prática clínica. Esta é ainda uma lacuna ainda pouco explorada dentro das escolas médicas.

Assim, o estudo também indica que ter uma atitude mais centrada no paciente, talvez não exija somente capacitação ao longo dos estágios do curso, mas também conhecimento e vivência maior a despeito de alguns domínios da espiritualidade, especialmente em ter um propósito e significado na vida (LACOMBE, 2017). Desta forma, uma abordagem no contexto da educação médica com foco na espiritualidade do graduando de medicina, atividades que estimulem o encontro de sentido e propósito na vida e possíveis dispositivos para desenvolvê-los, podem gerar resultados em atitudes com centralidade no paciente.

Por fim, faz-se necessário ampliar a compreensão sobre a necessidade de se considerar espiritualidade e crenças na educação médica. A espiritualidade dos Estudantes e Residentes de Medicina está associada positivamente com a atitude centrada no paciente e ao comportamento empático. Espiritualidade do estudante e residente é uma característica importante pouco abordada nas escolas médicas. A espiritualidade, como preditora das atitudes e da empatia, também pode influenciar a resposta dos estudantes e residentes de medicina nos currículos que promovem comportamento empático e centralidade no paciente. Sendo assim, este enfoque poderá contribuir para uma melhor qualidade da prática na educação médica e na relação médico paciente (LUCCHETTI et al., 2013) (KRÄGELOH et al., 2015b).

## REFERÊNCIAS

ABDALEATI NS, MOHD ZAHARIM N, MYDIN YO. **Religiousness and Mental Health: Systematic**

**Review Study.** J Relig Health. 2016; 55(6):1929–37.

BRADLEY C. **The interconnection between religious fundamentalism, spirituality, and the four dimensions of empathy.** Rev Relig Res [Internet]. 2009;51(2):201–19. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/20697334>

BRAZEAU CMLR, SCHROEDER R, ROVI S, BOYD L. **Relationships between medical student burnout, empathy, and professionalism climate.** Acad Med J Assoc Am Med Coll. 2010; 85(10 Suppl):S33-36.

CHEN D, LEW R, HERSHMAN W, ORLANDER J. **A cross-sectional measurement of medical student empathy.** J Gen Intern Med. 2007; 22(10):1434–8.

CHEN DCR, KIRSHENBAUM DS, YAN J, KIRSHENBAUM E, ASELTINE RH. **Characterizing changes in student empathy throughout medical school.** Med Teach. 2012; 34(4):305–11.

CRISTINA M, CAMPOS MSQ, DANTAS PEC, GOLDCHMIT M, BECHARA SJ, COSTA VP, ET AL. **A humanização da medicina.** Arq Bras Oftalmol [Internet]. 2007 [citado 23 de maio de 2017]; 70(6):897–897. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci\\_arttext&pid=S0004-27492007000600001&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S0004-27492007000600001&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)

DAALEMAN TP. **Religion, spirituality, and the practice of medicine.** J Am Board Fam Pract. 2004; 17(5):370–6.

DAMIANO RF, DE ANDRADE RIBEIRO LM, DOS SANTOS AG, DA SILVA BA, LUCCHETTI G. **Empathy is Associated with Meaning of Life and Mental Health Treatment but not Religiosity Among Brazilian Medical Students.** J Relig Health. 2017; 56(3):1003–17.

DILALLA LF, HULL SK, DORSEY JK, Department of Family and Community Medicine, Southern Illinois University School of Medicine, Carbondale 62901, USA. [Ldilalla@siu.edu](mailto:Ldilalla@siu.edu). **Effect of gender, age, and relevant course work on attitudes toward empathy, patient spirituality, and physician wellness.** Teach Learn Med. 2004; 16(2):165–70.

FORTIN AH, BARNETT KG. Student Jama. **Medical school curricula in spirituality and medicine.** JAMA. 2004; 291(23):2883.

GALL TL, MALETTE J, GUIRGUIS-YOUNGER M. **Spirituality and Religiousness: A Diversity of Definitions.** J Spiritual Ment Health [Internet]. 2011 [citado 23 de maio de 2017];13(3):158–81. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19349637.2011.593404>

GALLIAN DM. **A (re) humanização da medicina.** Psiquiatria na Prática Médica [Internet]. 2001 [citado 13 de março de 2017];34(4). Disponível em: <http://www2.unifesp.br/dpsiq/polbr/ppm/especial02a.htm>

HARSCH HH. **The Role of Empathy in Medical Students' Choice of Specialty.** Acad Psychiatry [Internet]. 15 de janeiro de 2014 [citado 11 de outubro de 2016]; 13(2):96–8. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/BF03341267>

HOJAT M, LOUIS DZ, MARKHAM FW, WENDER R, RABINOWITZ C, GONNELLA JS. **Physicians' Empathy and Clinical Outcomes for Diabetic Patients:** Acad Med [Internet]. 2011 [citado 19 de março de 2017]; 86(3): 359–64. Disponível em: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?Sid=WKPTLP:landingpage&an=00001888-201103000-00026>

HOJAT M, LOUIS DZ, MAXWELL K, MARKHAM F, WENDER R, GONNELLA JS. **Patient perceptions of physician empathy, satisfaction with physician, interpersonal trust, and compliance.** Int J Med Educ [Internet]. 2010 [citado 29 de maio de 2017]; 1:83–7. Disponível em: <http://www.ijme.net/archive/1/patient-perceptions-of-physician-empathy/>

HOJAT M. **Empathy in Patient Care: Antecedents, Development, Measurement, and Outcomes.** Springer Science & Business Media; 2007. 303 p.

HOJAT M. **Empathy in Patient Care: Antecedents, Development, Measurement, and Outcomes.** Springer Science & Business Media; 2007. 303 p.

HULL SK, DILALLA LF, DORSEY JK. **Student attitudes toward wellness, empathy, and spirituality in the curriculum.** Acad Med J Assoc Am Med Coll. 2001; 76(5):520.

INSTITUTE OF MEDICINE (US) COMMITTEE ON QUALITY OF HEALTH CARE IN AMERICA. Crossing the Quality Chasm: **A New Health System for the 21st Century** [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001 [citado 23 de maio de 2017]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222274/>

KATAOKA HU, KOIDE N, OCHI K, HOJAT M, GONNELLA JS. **Measurement of empathy among Japanese medical students: psychometrics and score differences by gender and level of medical education.** Acad Med J Assoc Am Med Coll. 2009; 84(9):1192–7.

KOENIG H, MCCULLOUGH M, LARSON D. **Handbook of religion and health: A century of research reviewed historical context.** 2001;

KOENIG HG. **Religion, Spirituality, and Medicine: Application to Clinical Practice.** JAMA [Internet]. 2000 [citado 23 de maio de 2017];284(13):1708. Disponível em: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?Doi=10.1001/jama.284.13.1708-JMS1004-5-1>

KOENIG HG. **Research on religion, spirituality, and mental health: a review.** Can J Psychiatry Rev Can Psychiatr. 2009; 54(5):283–91.

KRÄGELOH CU, BILLINGTON D, HENNING MA, CHAI P. **Spiritual quality of life and spiritual coping: evidence for a two-factor structure of the WHOQOL spirituality, religiousness, and personal beliefs module.** Health Qual Life Outcomes [Internet]. 2015 [citado 26 de setembro de 2016];13(1):26. Disponível em: <http://hqlo.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12955-015-0212-x>

KRÄGELOH CU, HENNING MA, BILLINGTON R, HAWKEN SJ. **The relationship between quality of life and spirituality, religiousness, and personal beliefs of medical students.** Acad Psychiatry J Am Assoc Dir Psychiatr Resid Train Assoc Acad Psychiatry. 2015; 39(1):85–9.

KRUPAT E, HIAM CM, FLEMING MZ, FREEMAN P. **Patient-centeredness and its correlates among first year medical students.** Int J Psychiatry Med. 1999; 29(3):347–56.

LA MONICA EL, WOLF RM, MADEA AR, OBERST MT. **Empathy and nursing care outcomes.** Sch Inq Nurs Pract. 1987;1(3):197–213.

LACOMBE, JB. **Espiritualidade dos estudantes e residentes de medicina: associações com empatia e atitude na relação médico-paciente.** 2017. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

LAMONICA EL, CAREW DK, WINDER AE, HAASE AM, BLANCHARD KH. **Empathy training as the major thrust of a staff development program.** Nurs Res. 1976; 25(6):447–51.

LITTLE P, EVERITT H, WILLIAMSON I, WARNER G, MOORE M, GOULD C, ET AL. **Preferences of patients for patient centred approach to consultation in primary care: observational study.** BMJ. 2001; 322(7284):468–72.

LUCCHETTI G, DE OLIVEIRA LR, LEITE JR, LUCCHETTI ALG, SBRAHE Collaborators. **Medical students and controversial ethical issues: results from the multicenter study SBRAHE.** BMC Med Ethics. 2014; 15:85.

LUCCHETTI G, GRANERO A. **Integration of spirituality courses in Brazilian medical schools.** Med Educ. 2010; 44(5):527.

LUCCHETTI G, LUCCHETTI ALG, VALLADA H. **Measuring spirituality and religiosity in clinical research: a systematic review of instruments available in the Portuguese language.** Sao Paulo Med J Rev Paul Med. 2013;131(2):112–22.

MARKSTROM CA, HUEY E, STILES BM, KRAUSE AL. **Frameworks of Caring and Helping in Adolescence: Are Empathy, Religiosity, and Spirituality Related Constructs?** Youth Soc [Internet]. 2010 [citado 23 de maio de 2017];42(1):59–80. Disponível em: <http://yas.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/0044118X09333644>

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO (BRASIL). **Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação de Medicina.** Diário Oficial da União, 23 de junho 2014. Seç. 1, RESOLUÇÃO CNE/CSE Número 3, junho 2014.

NEUMANN M, EDELHÄUSER F, TAUSCHEL D, FISCHER MR, WIRTZ M, WOOPEN C, ET AL. **Empathy decline and its reasons: a systematic review of studies with medical students and residents.** Acad Med J Assoc Am Med Coll. 2011; 86(8):996–1009.

PAGLIOSA FL, ROS D, AURÉLIO M. **The Flexner report: for good and for bad.** Rev Bras Educ Médica. 2008; 32(4):492–9.

PARO HBMS, SILVEIRA PSP, PEROTTA B, GANNAM S, ENNS SC, GIAXA RRB, ET AL. **Empathy among medical students: is there a relation with quality of life and burnout?** Plos One. 2014; 9(4): e94133.

PHYSICIANS FOR THE TWENTY-FIRST CENTURY: **The GPEP Report.** [Internet]. Association of American Medical Colleges(AAMC) Position paper from the AAMC.; 1984. Disponível em: <https://www.aamc.org/download/68522/data/clinicalskillsnutter.pdf>

PUCHALSKI CM. **Integrating spirituality into patient care: an essential element of person-centered care.** Pol Arch Med Wewn. 2013;123(9):491–7.

REGINATO V, BENEDETTO MACD, GALLIAN DMC. **Espiritualidade e saúde: uma experiência na graduação em medicina e enfermagem.** Trab Educ E Saúde [Internet]. 2016 [citado 27 de maio de 2017];14(1):237–55. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci\\_arttext&pid=S1981-77462016000100237&lng=pt&tling=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S1981-77462016000100237&lng=pt&tling=pt)

RIBEIRO MMF, AMARAL CFS. **Medicina centrada no paciente e ensino médico: a importância do cuidado com a pessoa e o poder médico.** Rev Bras Educ Médica [Internet]. 2008 [citado 23 de maio de 2017]; 32(1):90–7. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci\\_arttext&pid=S0100-55022008000100012&lng=pt&tling=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S0100-55022008000100012&lng=pt&tling=pt)

SANTOS MA, GROSSEMAN S, MORELLI TC, GIULIANO ICB, ERDMANN TR. **Empathy differences by gender and specialty preference in medical students: a study in Brazil.** Int J Med Educ. 2016; 7:149–53.

STEWART M, BROWN JB, DONNER A, MCWHINNEY IR, OATES J, WESTON WW, ET AL. **The impact of patient-centered care on outcomes.** J Fam Pract. 2000; 49(9):796–804.

THOMAS MR, DYRBYE LN, HUNTINGTON JL, LAWSON KL, NOVOTNY PJ, SLOAN JA, ET AL. **How Do Distress and Well-being Relate to Medical Student Empathy? A Multicenter Study.** J Gen Intern Med [Internet]. 2007 [citado 28 de janeiro de 2017]; 22(2):177–83. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1824738/>

VAN RYN M, HARDEMAN RR, PHELAN SM, BURKE SE, PRZEDWORSKI J, ALLEN ML, ET AL. **Psychosocial predictors of attitudes toward physician empathy in clinical encounters among 4732 1st year medical students: a report from the CHANGES study.** Patient Educ Couns. 2014;96(3):367–75.

WEST CP, HUSCHKA MM, NOVOTNY PJ, SLOAN JA, KOLARS JC, HABERMANN TM, ET AL. **Association of perceived medical errors with resident distress and empathy: a prospective longitudinal study.** JAMA. 2006; 296(9):1071–8.

WEST CP, HUSCHKA MM, NOVOTNY PJ, SLOAN JA, KOLARS JC, HABERMANN TM, ET AL. **Association of Perceived Medical Errors With Resident Distress and Empathy: A Prospective Longitudinal Study.** JAMA [Internet]. 2006 [citado 19 de março de 2017];296(9):1071. Disponível em: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?Doi=10.1001/jama.296.9.1071>

## O FORTALECIMENTO DE REDES SOCIAIS EM IDOSOS COM BAIXO DESEMPENHO NO MINI EXAME DE ESTADO MENTAL

*Data de aceite: 19/11/2018*

### **Tiago Guimarães Reis**

Centro Universitário de Patos De Minas (UNIPAM)  
Patos de Minas-MG

### **Ana Carolina Neves Santiago**

Centro Universitário de Patos De Minas (UNIPAM)  
Patos de Minas-MG

### **Kelly Vargas Londe Ribeiro de Almeida**

Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM)  
Patos de Minas-MG

### **Marilene Rivany Nunes**

Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM)  
Patos de Minas-MG

**RESUMO:** O envelhecimento é um processo de diminuição progressiva da reserva, podendo encaixar em senescência e senilidade. Afim da melhor atenção a este grupo, foi realizado Exame do Estado Mental - MEEM selecionando participantes para posterior aplicação do Mapa de Rede Social. Trata-se de um estudo intervencionista observacional transversal de caráter quanti-qualitativo, com pessoas com idade superior a 60 anos. Foi aplicado o MEEM em toda a amostragem, e, quando alterado, submetidos a realização do Mapa de Rede Social e, por fim, realizada uma sensibilização com os profissionais da Unidade Básica de

Saúde sobre a importância da Rede Social fortalecida no cuidado do Idoso. Dos 41 idosos havia 30 do sexo feminino e 11 masculino, a maioria possui 4 a 8 anos de estudo e média de 67,6 anos idade, dos quais 9 estavam alterados e 8 foram submetidos ao segundo teste e houve recusa de um participante. Na construção do Mapa de Rede Social percebeu predominância de indivíduos com desestrutura social, moda 5 integrantes, grande concentração no quadrante família, com vínculos significativos, relações sociais e íntimas e os profissionais de saúde se incluíram na metade dos relatos. Foi realizada reunião com os profissionais de saúde da unidade e apresentado os resultados encontrados durante a pesquisa e sensibilizando-os sobre seu insubstituível papel na vida desses pacientes. Neste estudo foi possível verificar que a associação do desempenho cognitivo no exame e a desestrutura social demonstra necessita de fortalecimento social através da aproximação da Unidade de Saúde para uma melhor assistência.

**PALAVRAS-CHAVE:** Envelhecimento. Mini-Mental. Rede Social.

**STRENGTHENING SOCIAL NETWORKS IN OLD PEOPLE WITH LOW PERFORMANCE**

**ABSTRACT:** Aging is a process of progressive decrease of reserve, which can fit into senescence and senility. In order to give the best attention to this group, the Mental State Examination - MMSE was selected, selecting participants for later application of the Social Network Map. This is a cross-sectional observational interventional study of quantitative and qualitative nature, with people over 60 years old. The MMSE was applied throughout the sample, and, when altered, submitted to the Social Network Map and, finally, a sensitization with the professionals of the Basic Health Unit about the importance of the strengthened Social Network in the care of the Elderly. Of the 41 elderly, 30 were female and 11 male, most had 4 to 8 years of schooling and average age of 67.6 years, of which 9 were altered and 8 were submitted to the second test and one participant was refused. In the construction of the Social Network Map noticed a predominance of individuals with social disruption, fashion 5 members, large concentration in the family quadrant, with significant links, social and intimate relationships and health professionals were included in half of the reports. A meeting was held with the health professionals of the unit and presented the results found during the research and sensitizing them about their irreplaceable role in the lives of these patients. In this study it was possible to verify that the association of cognitive performance in the exam and the social structure demonstrates needs social strengthening through the approach of the Health Unit for better assistance.

**KEYWORDS:** Aging. Mini-Mental. Social network.

## INTRODUÇÃO

Acerca do envelhecimento da população, é destacável o crescimento acentuado de um segmento populacional considerado inativo ou dependente *vis-à-vis* a um encolhimento do segmento em idade ativa. O resultado desse processo é o aumento elevado da população senil nos próximos anos, ou seja, são os *baby boomers* se transformando nos *elderly boomers*. Além disso, crescerá mais a população muito idosa, ou seja, a de 80 anos ou mais. Devido a isso, há profundas implicações nas agendas das políticas públicas. (Freitas, 2016)

O envelhecimento pode ser compreendido como um processo natural, de diminuição progressiva da reserva funcional dos indivíduos – senescência - o que, em condições normais, não costuma provocar qualquer problema. No entanto, em condições de sobrecarga como, por exemplo, doenças, acidentes e estresse emocional, pode ocasionar uma condição patológica que requeira assistência - senilidade. Cabe ressaltar que certas alterações decorrentes do processo de senescência podem ter seus efeitos minimizados pela assimilação de um estilo de vida mais ativo (BRASIL, 2006).

Para Areosa 2012, o maior desafio na atenção à pessoa idosa é conseguir contribuir para que, apesar das progressivas limitações que possam ocorrer, elas possam redescobrir possibilidades de viver sua própria vida com a máxima qualidade possível.

Dentre as grandes síndromes geriátricas destaca-se a Insuficiência cognitiva. Moraes 2010, p 56 descreve que a síndrome:

Designa o comprometimento das funções encefálicas superiores capaz de prejudicar a funcionalidade da pessoa. Para o estabelecimento do diagnóstico de incapacidade cognitiva e fundamental a constatação do prejuízo na funcionalidade do indivíduo ou perda de AVDs.

Como ferramenta para avaliação dessa síndrome, Bertolucci 1994 afirma que o MEEM é o teste de rastreio cognitivo para pessoas adultas e idosas mais utilizado no mundo. Existem versões traduzidas e autorizadas para mais de 35 países. É considerado um “teste de cabeceira” para psiquiatras, neurologistas, geriatras e psicólogos do envelhecimento. Sua publicação original é o trabalho mais citado em revistas neurocientíficas e, provavelmente, o artigo mais citado na história das ciências da saúde. No âmbito da pesquisa tem sido usado individualmente ou como parte integrante de baterias de avaliação neuropsicológica.

Segundo Folstein et al 1975, o MEEM original é composto por duas seções que medem funções cognitivas. A primeira seção contém itens que avaliam orientação, memória e atenção, totalizando 21 pontos; a segunda mede a capacidade de nomeação, de obediência a um comando verbal e a um escrito, de redação livre de uma sentença e de cópia de um desenho complexo (polígonos), perfazendo nove pontos. O escore total é de 30 pontos baseados em itens dicotômicos.

Importante ressaltar que a saúde da pessoa idosa inclui diversos fatores, ambientais, socioeconômicos, culturais e políticos que vão além do simples fato de ter ou não ter saúde. Portanto, é fundamental ao idoso uma rede social estruturada a fim de suprir suas necessidades. (Areosa et al, 2012)

Para Sluzki (1979), é possível definir rede social pessoal como uma resultante das relações significativas a um indivíduo diferenciando essas relações da massa anônima da população, constituindo o nicho interpessoal da pessoa auxiliando na construção de uma autoimagem. Visto isso, a incorporação das variáveis sociais nos modelos de tratamento tem consequências profundas nas atividades clínicas cotidianas, para as atividades conceituais e para os procedimentos das instituições em que se faz parte. (BERTOLUCCI, 1994)

A rede social de uma pessoa pode ser facilmente registrada em forma de mapa mínimo onde se inclui todos os indivíduos com quem interage essa determinada pessoa. Esse mapa é dividido em 4 quadrantes e 3 três níveis de relações. Os quadrantes são: Família, Amizades, Trabalho ou estudo e Relações comunitárias (o

qual se insere o sistema de saúde). Essas relações são distribuídas nos seguintes níveis: Relações íntimas, relações pessoais com menos grau de compromisso e conhecidos e relações ocasionais.

## **METODOLOGIA**

Foi realizado um estudo fundamentalmente analítico observacional transversal com aspectos intervencionistas de caráter quanti-qualitativo. Foi realizado com 41 pessoas com idade superior a 60 anos que compareceram por livre demanda à UBS Irmã Dora no bairro Novo Horizonte no município de Patos de Minas-MG no período de agosto a outubro nas quartas-feiras no período da tarde do ano de 2017.

Inicialmente foi aplicado o teste Mini Exame de Estado Mental em toda a amostragem e estes foram analisados a partir do seguinte escore (Brucki *et al.*, 2003 modificado): analfabetos – 20 pontos; 1 a 3 anos de estudo – 25 pontos; 4 a 8 anos de estudo – 26 pontos; maior que 8 anos de estudo – 28 pontos. Dessa forma, os considerados com pontuação fora do esperado foram convidados a segunda etapa da pesquisa que se tratava de uma entrevista que objetivava a construção do Mapa de Rede Social que foi avaliado de acordo com as descrições de Sluki 1997. A partir de então, foram selecionados e destacados os indivíduos cuja análise demonstrou-se desestruturada.

Por fim foi realizada uma reunião afim de apresentação os resultados e realizar a sensibilização com os profissionais da unidade básica de saúde a fim de informar e instruir a respeito da importância de uma rede social estruturada, da condição desses indivíduos pesquisados e de possíveis soluções para fortalecer os vínculos sociais desses.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Com a aplicação do projeto de pesquisa foi realizado com 41 idosos sendo 30 do sexo feminino e 11 do sexo masculino. Entre os entrevistados é possível constatar que a média de idade geral foi de 67,6 anos sendo a média 68,4 no sexo feminino e 65,3 no sexo masculino, a distribuição da idade dos participantes é mostrada na Tabela 1.

No gráfico 2, visualiza-se a distribuição dos participantes em relação ao sexo e os anos de estudo. Percebe-se que a maioria dos participantes possuíam 4 a 8 anos de estudo (53%) o que distorce dos resultados encontrados nacionalmente (21,7% da população possuía 4 a 7 anos de estudo). Verifica-se que o índice de analfabetismo foi de cerca de 22% no geral, sendo 9% no sexo masculino e no

sexo feminino cerca de 27%. Portanto, o índice geral de analfabetos e mulheres analfabetas são nitidamente superiores aqueles encontrados nacionalmente pelo IBGE, 8% no geral e 7,7% na população feminina. Outro dado destacável é que, na localidade, aqueles que possuem mais de 8 anos de estudo somam 14,6 % enquanto no Brasil esse valor chega a 57,6% da população acima dos 25 anos. Tendo esses dados em vista, é possível afirmar que trata-se de uma população menos escolarizada e, conseqüentemente, é aceitável MEEM com menores pontuações.

Ao aplicar o Mini Exame de estado mental, foram selecionados o total de 9 pacientes com índice abaixo do escore esperado para sua escolaridade, correspondendo a 22% da amostra total (Gráfico 1). Desses, apenas um participante se recusou a elaboração do Mapa de Rede Social.

Idade	Nº de participantes
60-69	27
70-79	11
80-89	3

Tabela 1: Distribuição dos participantes

Fonte: Resultados obtidos pelo autor

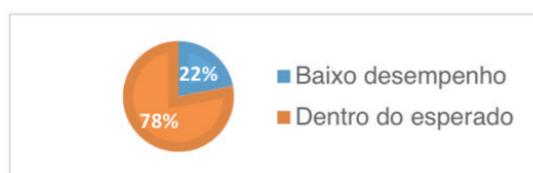


Gráfico 1: Resultado do MEEM.

Fonte: Resultados obtidos pelo autor

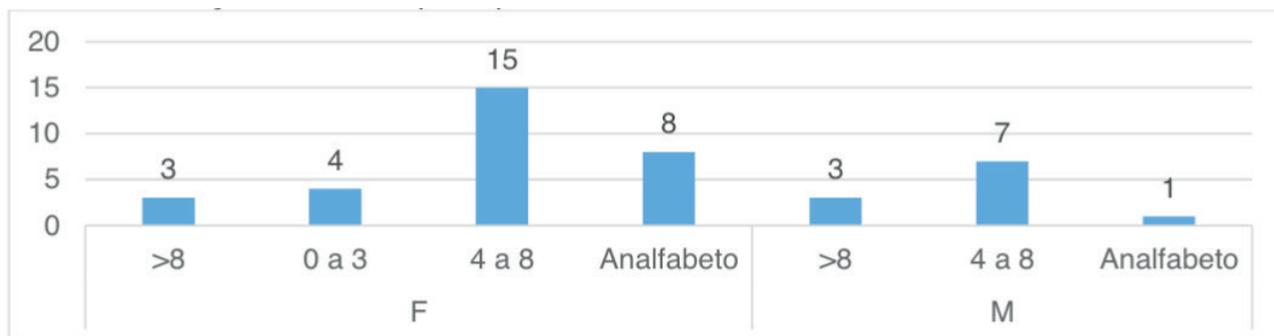


Gráfico 2: Relação Número de participantes x Sexo x Anos de estudo

Fonte: Resultados obtidos pelo autor.

Em relação à construção do Mapa de Rede Social foi possível constatar que nesses indivíduos há predominância de uma desestruturação social uma vez que foram observados 6 indivíduos considerados com uma rede social insuficiente contra 2 com a rede considerada estruturada. Foi evidenciado que a moda do número de membros foi 5, considerado uma quantidade insuficiente pois é inferior ao ideal (para Sluki 1997 o ideal seria entre 7 a 10 indivíduos). (Tabela 2) Em geral esses indivíduos possuíam vínculos significativos, com grande concentração no quadrante familiar (dos cinco que se apresentaram como concentrada, todas foram no quadrante familiar) e as relações eram por vezes sociais (cinco) ou íntimas (três). Segundo Sluki 1997, quando há grande concentração em um único quadrante isso

é prejudicial à rede social da pessoa.

	Nº de Membro	Distribuição	Quadrante Predomínio	Qualidade dos vínculos	Nível geral das relações	Avaliação final da rede social	Prof. de saúde
A	5	Concentrada	Família	Significativo	Relação íntima	Desestruturada	Médico
B	5	Concentrada	Família	Significativo	Relações Sociais	Desestruturada	Não
C	12	Concentrada	Família	Significativo	Relações Sociais	Desestruturada	Não
D	7	Bem distribuída	Comunidade	Significativo	Relações Sociais	Estruturada	Não
E	16	Concentrada	Família	Fragilizado	Relações Sociais	Desestruturada	Não
F	5	Bem distribuída	Família	Significativo	Relação íntima	Desestruturada	ACS
G	6	Concentrada	Família	Significativo	Relação íntima	Desestruturada	ACS
H	9	Bem distribuída	Comunidade	Significativo	Relações Sociais	Estruturada	Médico e ACS

Tabela 2: Resultados do Mapa de Rede Social

Fonte: Resultados obtidos pelo autor

É notável, também, a representatividade da presença de profissionais de saúde que constituem a rede social dos entrevistados fortalecendo às estruturas dos mesmos (Tabela 2). A equipe de saúde faz parte dos componentes das relações comunitárias e, nesse aspecto, um participante com avaliação final da rede como estruturada possuíam profissionais de saúde como constituintes. Outros três pesquisados também possuíam o profissional em sua rede; nesses casos, apesar de não considerada estruturada, o profissional contribui para a possível alcance do parâmetro ideal uma vez que atua no auxílio como mais um membro na rede bem como na melhor distribuição desses membros alcançando uma situação onde a distribuição da responsabilidade pelo idoso é melhor realizada. A figura 1 relata como a presença do profissional de saúde atua em benefício da rede social desses idosos

Ao final, foi realizado uma reunião com os profissionais da unidade afim de apresentar os resultados encontrados na pesquisa. Nessa ocasião foi salientado a importância do profissional de saúde da atenção básica como agente fortalecedor de redes sociais demonstrando possíveis ações para tal com enfoque na elaboração estratégias multidisciplinares e por meio da integração dessa população ao sistema de saúde.

## CONCLUSÃO

A associação do desempenho cognitivo no exame e a desestrutura social demonstra que há a necessidade do fortalecimento social através da aproximação da Unidade de Saúde a fim de proporcionar um cuidado mais eficiente e integral do idoso. Diante do estudo apresentado, a análise da aplicação de mapas sociais para os idosos que produziram resultados insatisfatórios no Mini Exame do Estado Mental tornam-se altamente necessárias, visto que 75% dos idosos participantes do estudo possuíam uma rede social mal estruturada.

Comprova-se, então, que o profissional de saúde é um agente fortalecedor da estrutura social do idoso e pode atuar a favor do mesmo a fim de estabelecer um cuidado integral proporcionando melhor qualidade de vida ao idoso.

## REFERÊNCIAS

- AREOSA, S. V. C., et al. **ENVELHECIMENTO: RELAÇÕES PESSOAIS E FAMILIARES**. Barbarói, Santa Cruz do Sul, v.36, ed. esp., p.120-132, jan./jun. 2012
- BERTOLUCCI PHF. ET AL. **O MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL EM UMA POPULAÇÃO GERAL: IMPACTO DA ESCOLARIDADE**. Arq. Neuro-psiquiat. 1994; 52:1-7.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **ENVELHECIMENTO E SAÚDE DA PESSOA IDOSA**. Brasília, 2006. Caderno de Atenção Básica n. 19.
- BRUCKI SMD, NITRINI R, CARAMELLI P, BERTOLUCCI PHF, OKAMOTO IH. **SUGESTÕES PARA O USO DO MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL NO BRASIL**. Arquivos de Neuropsiquiatria. 2003; 61:777-81.
- FOLSTEIN M, FOLSTEIN S, MCHUGH P. **“MINI-MENTAL STATE”**. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. J Psychiatr Res 1975; 12(3):189-198
- FREITAS, E. V. de. **TRATADO DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA**. – 4. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- MORAES, E. N. de; et al. **PRINCIPAIS SÍNDROMES GERIÁTRICAS**. Rev Med Minas Gerais 2010; 20(1): 54-66.
- PESQUISA NACIONAL POR AMOSTRA DE DOMICÍLIOS**: síntese de indicadores 2015 / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE, 2016.
- SLUZKI, C. E. **A REDE SOCIAL NA PRÁTICA SISTÊMICA**. Tradução Claudia Berliner- São Paulo, 1997.

## PROJETO SAÚDE NA ESCOLA: DESMISTIFICANDO A SEXUALIDADE

Data de aceite: 19/11/2018

### **Natane Miquelante**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Ana Carolina de Lacerda**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Camila Rita de Souza Bertoloni**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Fernanda Ribeiro e Fonseca**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Mateus Lacerda Medeiros da Silva**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Thiago de Deus Cunha**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Camila Magalhães Coelho**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Rafael Rosa Marques Gomes Melo**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Cristal Pedroso Costa**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Lauriane Ferreira Morlin**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **Ana Carolina Ruela Vieira**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

### **José Diogo David de Souza**

Graduandos em Medicina pelo Centro  
Universitário de Patos de Minas.

**RESUMO:** A educação sexual contribui para o fortalecimento da autonomia e do autocuidado. Os jovens muitas vezes não têm oportunidade de abordar esses temas com a família, encontrando no espaço escolar uma forma de esclarecer suas dúvidas. Esta pesquisa objetivou promover a autonomia entre os adolescentes através da educação sexual nas escolas. Trata-se de uma intervenção populacional com os alunos do 9º ano do Ensino Fundamental e 1º ano do Ensino Médio do Colégio Tiradentes da Polícia Militar, no município de Patos de Minas-MG, no ano de 2016. Foram utilizadas duas dinâmicas do Programa Saúde na Escola do Ministério da Saúde, a fim de verificar o conhecimento dos alunos acerca de temas como sexualidade, gravidez, direitos e deveres sexuais e reprodutivos, doenças sexualmente transmissíveis e métodos contraceptivos. Após a aplicação da dinâmica, foi constatado que os alunos tinham bastante conhecimento acerca

do tema, demonstrando a importância da escola na transmissão de conhecimentos sobre educação sexual e salientando a relevância do Projeto Saúde no Território (PST) na transmissão de conhecimentos sobre a saúde aos adolescentes de Patos de Minas. **PALAVRAS-CHAVE:** Sexualidade. Saúde Escolar. Saúde do Adolescente.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os profissionais de saúde que se propõem a trabalhar com grupos de adolescentes nas Unidades Básicas de Saúde, Escolas ou Centros Comunitários, sabem que a questão que emerge com muito significado nas discussões é a sexualidade. Sabemos que os adultos que cercam o adolescente, pais e professores, têm dificuldade para abordar essa temática no dia-a-dia, não permitindo com isso que os jovens tenham uma fonte segura, principalmente nos dias atuais, para esclarecer suas dúvidas (BRASIL, 2012).

Quando falamos de sexualidade, falamos também sobre a gravidez na adolescência, que deve ser abordada na discussão ampla sobre o tema sexualidade, sem julgamentos de valores e com respeito aos direitos sexuais e reprodutivos de adolescentes e jovens. Abrir canais de comunicação com os jovens contribui para o fortalecimento da autonomia e do autocuidado. A discussão sobre projetos de vida é fundamental para abordar melhor a gravidez na adolescência, é preciso reconhecer que isso traz mudanças para a vida do jovem e que o apoio das escolas e dos serviços de saúde pode contribuir para a não evasão escolar. Consolidar espaços de discussão permanente nas escolas e o acolhimento das demandas dos jovens nos serviços de saúde pode ajudar no processo de tomada de decisão sobre sua vida sexual e reprodutiva (CANO, 2000).

A adolescência é uma etapa da vida na qual a personalidade está em fase final de estruturação e a sexualidade se insere nesse processo, sobretudo como um elemento estruturador da identidade do adolescente. Por isso, nosso objetivo de buscarmos conhecer melhor os mitos, tabus e a realidade da sexualidade, para que possamos abordá-la de forma mais tranquila com os adolescentes, mantendo um diálogo franco para entender as manifestações dessa sexualidade aflorada e própria da idade (MANDÚ, 2013).

## 2 | METODOLOGIA

Trata-se de uma intervenção populacional com os alunos do 9º ano do Ensino Fundamental e 1º ano do Ensino Médio do Colégio Tiradentes da Polícia Militar, no município de Patos de Minas-MG, no ano de 2016. Foram utilizadas duas

dinâmicas do Programa Saúde na Escola do Ministério da Saúde a fim de verificar o conhecimento dos alunos acerca de temas como sexualidade, gravidez, direitos e deveres sexuais e reprodutivos, doenças sexualmente transmissíveis e métodos contraceptivos.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos alunos participantes da aplicação do Projeto Saúde na Escola sobre o tema Desmistificando a Sexualidade, no Colégio Tiradentes da Polícia Militar de Patos de Minas- MG, participaram da “Oficina - Direitos sexuais e direitos reprodutivos” no dia 28/09/2016, as turmas do 9º ano, a turma 901 com 48 alunos - 22 meninos e 26 meninas - e a turma 902 com 45 com alunos - 19 meninos e 26 meninas. Na atividade “Negociando o uso do Preservativo - batata quente”, aplicada no 20/10/2016, participaram as turmas do 1º ano do ensino médio, sendo a turma 101 com 57 alunos - 26 meninos e 31 meninas e a turma 102 com 60 alunos- 29 meninos e 32 meninas. A faixa etária trabalhada foi entre 14 a 16 anos – pré-adolescentes e adolescentes.

O trabalho foi executado dentro do cronograma e nos termos programados, as dinâmicas se revelaram frutíferas e as palestras elucidativas, reforçando a necessidade de se trabalhar com os adolescentes a questão da sexualidade, principalmente no que tange à aquisição de um conhecimento mais aprofundado e quebra de barreiras, especificamente a desmistificação. Considerando que o Colégio Tiradentes da Polícia Militar é uma escola em que a maioria de seus alunos é de filhos e/ou parentes de militares presumidamente inseridos em um contexto socioeconômico favorável, podemos perceber que já havia certo esclarecimento dos alunos, especialmente do 1.º Ano do Ensino Médio, quanto ao tema, o que engrandeceu e até facilitou a aplicação do conteúdo, no entanto, verificou-se a existência de alguns preconceitos, inclusive quanto à liberdade de escolha do momento para a iniciação da vida sexual.

Genericamente, os alunos participantes estão a par das formas de prevenção de doenças sexualmente transmissíveis e também da gravidez, no entanto, ainda não tem uma maturidade para encarar os direitos relacionados à vida sexual de maneira livre, uma vez que, conforme já citado, o burburinho causado, por exemplo, quando se falou no direito de escolha do momento correto para a iniciação da vida sexual, teve uma conotação claramente pejorativa e julgadora, focada nos colegas que já deram início às atividades sexuais, sendo necessário maior reflexão neste sentido.

O maior conhecimento acerca dos “deveres” sexuais e reprodutivos por parte dos alunos demonstra que a educação sexual nas escolas adota uma metodologia

mais conservadora, quiçá negativa, do ato sexual, procurando postergar ao máximo o conhecimento dos adolescentes acerca dos direitos e, portanto, dos eventuais prazeres por trás da saudável prática sexual. Salientando-se, por óbvio, que o simples fato de se explicar acerca da liberdade sexual, clareando o que se esconde por trás dos tabus sexuais, não pode por si ser considerado um incentivo para que o adolescente inicie a vida sexual precocemente ou passe por experiências diferenciadas.

É claro que algumas limitações foram impostas, como por exemplo, o tempo de execução das dinâmicas ou o fato de ser só uma turma de alunos, no entanto, por se tratar, como supracitado, de uma escola inserida em um contexto socioeconômico homogêneo e também pelo próprio equilíbrio demonstrado entre os diversos alunos de uma mesma classe, as referidas limitações pouco influenciaram na execução do projeto e nos resultados ora apresentados e discutidos.

#### 4 | CONCLUSÃO

O Projeto Saúde e Prevenção nas Escolas, que faz parte do Programa Saúde nas Escolas do Governo Federal, modelo utilizado para aplicação do nosso Projeto Saúde no Território, é, sem dúvidas uma ferramenta incrivelmente útil na mão de educadores e profissionais da saúde para levar mais esclarecimento aos alunos das escolas do país, sendo que, o primeiro passo em termos de desmistificação é apagar a errônea concepção de que a aberta participação da escola na educação de sexual de seus alunos pode constituir incentivo à tais práticas.

Mesmo diante de uma boa carga de informação pré-existente, percebe-se que ainda é necessária uma reflexão mais aprofundada e aberta sobre o tema sexualidade, que procure de forma mais efetiva, trabalhar com os alunos a quebra de preconceitos quanto a diversidade sexual e iniciação sexual, e o entendimento que a sexualidade vai além de se evitar uma gravidez e a prevenir doenças sexualmente transmissíveis, mas também de direitos, como o acesso ao Sistema de Saúde.

#### REFERÊNCIAS

MANDÚ. E.N.T. Adolescência: Saúde, sexualidade e reprodução. **Revista Adolescer**, Rio de Janeiro, cap.3, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Ministério da Educação. **Semana saúde na escola: guia de sugestões de atividades**. Brasília, 2012.

CANO. M. A.T. *et al.* Sexualidade na adolescência: um estudo bibliográfico. **Revista Latino-am. Enfermagem**. Ribeirão Preto, v. 8, n.2, p. 18-24, Abril, 2000.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**LAIS DAIENE COSMOSKI** - Professora adjunta do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), nos cursos de Tecnologia em Radiologia e Bacharelado em Farmácia. Analista clínica no Laboratório do Hospital Geral da Unimed (HGU). Bacharel em Biomedicina pelas Universidades Integradas do Brasil (UniBrasil). Especialista em Circulação Extracorpórea pelo Centro Brasileiro de Ensinos Médicos (Cebamed) Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPG. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de avaliação clínico/laboratorial de processos fisiopatológicos.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Abortivos 12

Amido Resistente 140, 141, 144

Ansiedade 54, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 250

Assimetria Cerebral 22

### B

Banana 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147

Banco de Dados Moleculares 22

Biomarcadores 148, 155, 157, 158

Biotérios Brasileiros 111, 112, 125, 127, 130, 131, 134

### C

Camundongo Nude 39

Capacitação 33, 34, 35, 36, 212, 215, 216, 220, 261

Consumo Alimentar na Adolescência 197

Cuidados Paliativos 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221

Cytokines 68, 69, 71, 77, 78, 81

### D

Dengue 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160

Dengue Grave 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158

Denv 148, 149, 150, 151, 152, 155, 156, 157, 158

Depressão 54, 65, 66, 224, 225, 226, 227, 228, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 250, 257, 259

Detecção Precoce 148, 158

Distúrbios Osteomusculares Relacionados ao Trabalho (DORT) 33, 34

### E

Educação Médica 211, 256, 259, 260, 261

Empatia 216, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 263

Envelhecimento 54, 64, 213, 266, 267, 268, 272

Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação 161, 162, 166

Espiritualidade 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 219, 220, 221, 256, 258, 259, 260, 261, 263, 264

Estágio Clínico 210, 211, 215

Estimulação Neuronal 53, 55

Estudantes de Medicina 210, 212, 213, 215, 216, 219, 221, 222, 235, 256, 257, 258, 259

Experimental 8, 12, 18, 40, 41, 50, 63, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 88, 89, 110, 112, 133, 134, 135, 136, 159, 166

## F

Fator de Crescimento Neuronal 53, 55, 59

Fitoterapia 12, 14, 19, 58

## G

Gestação na Adolescência 197, 198

Ginástica Laboral 33, 34, 35, 37

Gravidez 12, 14, 19, 20, 197, 199, 208, 273, 274, 275, 276

## L

Laparoscopy 68, 78, 80, 81, 82

Lateralidade 22, 107

Lung Injury 68, 78

## M

Metástase Hepática 39

Mini-Mental 266, 267, 272

Modelo de Primata Neuropsiquiátrico 22

Modelo Pré-Clínico 39

Monitoramento Sanitário 111, 112, 125, 126, 131, 132

## N

Norovirus murino 130

Nutrição 140, 145, 150, 197, 198, 204

Nutrição da Adolescente Grávida 197

## O

Oxidative Stress 66, 68, 69, 71, 77, 78, 79, 80, 81, 82

## P

Plantas Medicinais 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 59, 67

Pneumoperitoneum 68, 69, 70, 72, 73, 74, 75, 76, 78, 79, 80, 81, 82

## R

Rede Social 266, 268, 269, 270, 271, 272

Relação Médico-Paciente 256, 259, 263

Religiosidade 210, 212, 213, 214, 215, 216, 218, 219, 220, 221, 222, 224, 225, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 256, 258, 259, 260

Robô R1T1 161, 162, 165, 166, 167, 168, 169, 171, 173

Rosmarinus Officinalis 15, 52, 53, 55, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67

## S

Saúde Animal 112

Saúde do Adolescente 274

Saúde Escolar 274

Sexualidade 273, 274, 275, 276

## T

Transcriptômica 22

Transplante de Órgãos 162, 163, 166, 171, 173

## U

Ultrassom 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 39, 181

## X

Xenoenxerto Ortotópico 39

