



Avanços Científicos em Medicina 2

Marcia Alessandra Arantes Marques
(Organizadora)



Avanços Científicos em Medicina 2

Marcia Alessandra Arantes Marques
(Organizadora)

Editor Chefe
Emerson Botelho Lourenço

Editora Adjunta
Isabela Arantes Ferreira

Coordenador Editorial
Lucas Batista Cunha

Bibliotecária
Maria Alice Ferreira

Diagramação
Marcos Antonio Ribeiro Pereira

Arte da Capa
Matheus Lacerra

Imagem da Capa
Freepik

Revisão
Os autores

O conteúdo deste livro está licenciado sob uma licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial Não Derivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).



2021 by Bookerfield Editora
Copyright © Bookerfield Editora
Copyright do Texto © 2021 Os autores
Copyright da Edição © 2021 Bookerfield Editora
Os autores cedem à Bookerfield Editora os direitos para esta edição

Esta obra é de natureza digital (e-book). Versões impressas são permitidas, não tendo a Bookerfield Editora qualquer responsabilidade pela confecção e distribuição de exemplares físicos deste conteúdo.

Todos os manuscritos da obra passaram por rigorosa avaliação cega pelos pares, baseadas em critérios científicos e imparciais, recebendo a aprovação após atender os critérios técnicos estabelecidos pelo Conselho Editorial.

Todo o conteúdo do livro e de artigos individuais é de responsabilidade exclusiva de seus respectivos autores, não sendo a Bookerfield Editora responsável por quaisquer eventuais irregularidades.

Situações como plágio, má conduta ética/científica ou dados e resultados fraudulentos são de responsabilidade do autor, comprometendo-se a Bookerfield Editora em investigá-las rigorosamente e tomar as ações cabíveis.

O download, compartilhamento e referência da obra são permitidos mediante atribuição de crédito aos autores e à Editora. A comercialização desta obra é expressamente proibida.

CONSELHO EDITORIAL

Ciências Agrárias

Afrânio Silva Madeiro
Alirya Magda Santos do Vale Gomes
Ana Luiza Trovo Marques de Souza
Carlos Eugenio Fortes Teixeira
Daniela Kunkel
Daniele Cristina Ficanha
Elson Barbosa da Silva Junior
Fabiana Schiochet
Fernando Rezende da Costa
Flávio José Rodrigues Cruz
Heiriane Martins Sousa
João Francisco Severo Santos
Joelma Leão Buchir
Kleber Fernando Pereira
Marden Manuel Rodrigues Marques
Maria Cristina Bueno Coelho
Monyck Jeane dos Santos Lopes
Pablo Daniel Freitas Bueno

Ciências Biológicas

Cesar Augusto Cunha Cervantes
Débora Cristina Damasceno
Érika Alves Tavares Marques
Fabíola Aliaga de Lima
Flávio José Rodrigues Cruz
Heiriane Martins Sousa
Jaqueline Rocha Borges dos Santos
Joelma Leão Buchir
José Amorim
José Maria Ferraz Filho
Jussara Gonçalves Fonseca
Kleber Fernando Pereira
Mário César de Oliveira
Morgana do Nascimento Xavier
Nathália Sayuri Yamamoto
Noemi Mendes Fernandes
Patricia Köster e Silva
Rafael Mesquita Stoque

Renato Luís Veiga Oliveira Júnior
Veronica Gabriela Ribeiro da Silva

Ciências da Saúde

Adriano José Barbosa Junior
Alexandre Daré de Almeida
Ana Irene Coelho Nunes
Ana Luiza Trovo Marques de Souza
Andrea Borges Gaia
Andressa Ribeiro Contreira
Camila Gemin R. Locatelli
Carlos Vinícius Pagani Vieira Machado
Débora Cristina Damasceno
Elisângela Rodrigues Carrijo
Fabiana Leticia Sbaraini
Fabio José Antonio da Silva
Fabrício Casanova
Gisela da Costa Mascarenhas
Greicielle Pereira Arruda
Ivonete Aparecida Alves Sampaio
Janaina da Câmara Zambelli
Jandira Maria do Amarilho Silveira
Jaqueline Rocha Borges dos Santos
João Francisco Severo Santos
Jogilmira Macedo Silva Mendes
José Aderval Aragão
José Maria Ferraz Filho
José Roberto Zaffalon Júnior
Juliane Campos Inácio
June Fernanda Maria Teixeira
Katia Fernanda Forti Porcaro
Kilvia Paula Soares Macedo
Líncon Bordignon Somensi
Luciane Cristina Arantes
Marcello Alberton Herdt
Marcelo Benedit Tournier
Marcelo de Oliveira Pinto
Marcos Guimarães de Souza Cunha

Marcos Roberto Brasil
Maria Cristina C Nepomuceno
Carvalho
Nara Michelle Moura Soares
Nillianne Charles Ribeiro
Rafael Mesquita Stoque
Randson Souza Rosa
Renato Carlos Machado
Rogério Wagner da Silva
Sheila Moura Amaral
Simone Mattos do Nascimento
Sofia Banzatto
Suzana Silva Lira
Taíza Fernanda Ramalhais
Thaís Mendonça Resende
Thiago Luciano Rodrigues da Silva
Valéria Rodrigues da Conceição
Veronica Gabriela Ribeiro da Silva
Vivian Victoria Vivanco Valenzuela

Ciências Exatas e da Terra

Andrea Sartori Jabur
Cláudia Hitomi Watanabe Rezende
Dalvani Fernandes
Duany Dreyton Bezerra Sousa
Edfram Rodrigues Pereira
Evandro Preuss
Gisane Aparecida Michelin
Henrique Mariano Costa do Amaral
Henrique Pereira Oliveira Neves
Hermam Vargas Silva
Isidro ihadua
João César Abreu de Oliveira Filho
Lívia Sancho
Luiz Eduardo da Silva Gomes
Manolo Cleiton Costa de Freitas
Marco Aurélio Schünke
Marcos do Carmo Pereira
Rodolfo Lucas Bortoluzzi
Sonia Tomie Tanimoto
Vagner Marques de Moura
Valdecir Alves dos Santos Júnior

Ciências Humanas

Adailton Pereira de Melo
Alberto Carlos de Souza
Ana Margarida Theodoro Caminhas
Breno Henrique Ferreira Cypriano
Bruna Pacheco de Almeida
Bruno Cezar Silva
Camila Bueno Grejo
Camila de Vasconcelos Tabares
Carlos Eduardo Mauricio
Dalvani Fernandes
Dayane Cristina Guarnieri
Deiziane Pinheiro Aguiar
Eduardo Henrique Assis Cidade
Elisângela Rodrigues Carrijo
Eulalia Fabiano
Fernando Cesar Mendes Barbosa
Guilherme Camara Meireles
Guilherme William Udo Santos
Isadora Vianna Sento-Sé
João César Abreu de Oliveira Filho
João Francisco Severo Santos
Josael Jario Santos Lima
Josiane Nascimento Andrade
Luana Mayer de Souza
Marcos Pereira dos Santos
Marcos Pereira Magalhães
Maria Cristina C Nepomuceno
Carvalho
Marlon Nantes Foss
Miguel Rodrigues Netto
Oscar Yecid Bello Bello
Rebecca Bianca de Melo Magalhães
Sandra das Dores Souza
Silvio Santiago-Vieira
Susan Audrey Bueno dos Santos
Taíza Fernanda Ramalhais
Tatiane dos Santos Duarte
Vanderlei Frari
Vânia Maria Carvalho de Sousa
Vinícius Dantas Silveira

Ciências Sociais Aplicadas

Aline De Souza Lima Barbaroto
Ana Margarida Theodoro Caminhas
Bruna Pacheco de Almeida
Bruno Cezar Silva
Camila Nathalia Padula de Godoy
Cassio Rene Duminelli
Daniel Nascimento e Silva
Eduardo Henrique Assis Cidade
Elisângela Rodrigues Carrijo
Érika Rigotti Furtado
Eulalia Fabiano
Fernando Cesar Mendes Barbosa
Gisela da Costa Mascarenhas
Hermam Vargas Silva
Horácio Monteschio
Isabel das Mercedes Costa
Isadora Vianna Sento-Sé
João Clécio de Sousa Holanda
João Francisco Severo Santos
João Vitor Gomes Pinto
Josael Jario Santos Lima
Josiane Nascimento Andrade
Marco Aurelio de Jesus Mendes
Maria Cristina C Nepomuceno
Carvalho
Miguel Rodrigues Netto
Nelson Calsavara Garcia Junior
Renato Obikawa Kyosen
Rodolfo Lucas Bortoluzzi
Sandra Couto Barbosa
Solange Kileber
Susan Audrey Bueno dos Santos
Vanessa Paiva Costa Vale
Vinícius Dantas Silveira

Engenharias

Alejandro Victor Hidalgo Valdivia
Andrea Sartori Jabur
Andréia Monique Lermen
Cristhiane Michiko Passos Okawa
Daniele Cristina Ficanha

Elaine Patricia Arantes
Fernando Oliveira de Andrade
Henrique Mariano Costa do Amaral
Israel Henrique Ribeiro Rios
Jaime Andres Castaneda Barbosa
Marcelo Henrique da Silva
Marcelo Marques
Marcos Guimarães de Souza Cunha
Rafael Gonçalves Mafra
Rodolfo Lucas Bortoluzzi
Thiago Averaldo Bimestre
Valdecir Alves dos Santos Júnior
Vanessa Paiva Costa Vale

Linguística, Letras e Artes

Alberto Carlos de Souza
Geison Araujo Silva
Guilherme William Udo Santos
José Edson Barros Correia
Luciano de Oliveira Costa
Márcia Donizete Leite-Oliveira
Marlon Nantes Foss
Silvio Santiago-Vieira
Thiago Blanch Pires
Vera Regiane Brescovici Nunes

Multidisciplinar

Alejandro Victor Hidalgo Valdivia
Aline De Souza Lima Barbaroto
Ana Margarida Theodoro Caminhas
Andrea Sartori Jabur
Andréia Monique Lermen
Cláudia Hitomi Watanabe Rezende
Érika Alves Tavares Marques
Fernanda Imada de Lima
Fernando Oliveira de Andrade
Guilherme Camara Meireles
Isidro ihadua
José Amorim
Marcelo Marques
Vanessa Paiva Costa Vale

Avanços Científicos em Medicina 2

Editor Chefe Emerson Botelho Lourenço
Editora Adjunta Isabela Arantes Ferreira
Coordenador Editorial Lucas Batista Cunha
Bibliotecária Maria Alice Ferreira
Diagramação Marcos Antonio Ribeiro Pereira
Revisão Os Autores

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Avanços científicos em medicina 2 [livro eletrônico] / Marcia Alessandra Arantes Marques (organizadora). -- São Paulo : Bookerfield, 2021.
PDF

ISBN 978-65-89929-35-2

1. Medicina 2. Medicina - Estudo e ensino
I. Marques, Marcia Alessandra Arantes

21-93610

CDD-610

Índices para catálogo sistemático:

1. Medicina 610

Maria Alice Ferreira - Bibliotecária - CRB-8/7964

DOI 10.53268/BKF21120200

Bookerfield Editora
São Paulo – Brasil
Telefone: +55 (11) 98441-4444
www.bookerfield.com
contato@bookerfield.com



DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores declaram não haver qualquer interesse comercial ou irregularidade que comprometa a integridade desta obra; declaram que participaram da elaboração e revisão da obra, atestando a confiabilidade dos dados e resultados; declaram que a obra está livre de plágio acadêmico; declaram que a publicação desta obra não fere qualquer outro contrato por eles firmados; declaram ter atendido eventuais exigências de outras partes, como instituições financiadoras, para a publicação desta obra.

APRESENTAÇÃO

Este livro reúne trabalhos científicos relevantes em Ciências Médicas. Decidiu-se pela divisão em três seções: i) área pré-clínica; ii) psiquiatria e neurologia; iii) infectologia.

Considerando a ampla aplicação de cimentos ortopédicos e dentários para os mais diversos fins no âmbito das ciências da saúde, os capítulos um e dois se complementam e trazem importante contribuição científica avaliando o cimento PBS®CIMMO no preenchimento de falhas ósseas aplicadas às intervenções bucais.

O microRNA-26a é um modulador endógeno do fator de crescimento dos hepatócitos, de papel relevante no reparo tecidual. O papel do miR26a no processo de reparo renal foi avaliado em ratos submetidos a modelo de lesão renal aguda induzida e apresentado pelo capítulo três. O estudo sugere que miR26a pode ter um papel de controle de feedback negativo da tradução de HGF durante a fase de recuperação / proliferativa.

Por meio do capítulo quatro foram demonstrados os efeitos cardioprotetores do carvedilol através da melhora da função cardíaca após a lesão de isquemia e reperfusão, redução da área de infarto cardíaco e redução da atividade de importantes enzimas antioxidantes após a lesão de isquemia e reperfusão cardíaca. O estudo contribui para a ciência farmacêutica produzir fármacos que possam ser utilizados no tratamento de pacientes com cardiopatia aguda visando a prevenção dos danos oxidativos decorrentes da lesão de reperfusão cardíaca.

Iniciando a seção de Psiquiatria e Neurologia, por meio do capítulo cinco foi abordado o tema da dependência química de álcool enquanto problema de saúde pública e o alto índice de abandono de tratamento. Foram investigadas as características clínicas relacionadas à prontidão de alcoolistas para permanecer em tratamento. O capítulo demonstra a importância da identificação de fatores de modificação dos aspectos motivacionais na construção de projetos terapêuticos mais consentâneos às necessidades terapêuticas individuais.

A associação entre epilepsia e transtornos psiquiátricos tem sido descrita desde o início da prática da Neurologia e da Psiquiatria. Comorbidades psiquiátricas têm impacto direto no prognóstico de pacientes epiléticos, influenciando o controle farmacológico e cirúrgico de crises, aumentando a mortalidade. Pelo capítulo seis é demonstrada a importância da identificação destas variáveis clínicas durante a avaliação diagnóstica dos pacientes com epilepsia. As imbricações entre o fenômeno epilético e os transtornos mentais aproximam Neurologia e Psiquiatria em torno mecanismos fisiopatológicos comuns a ambos.

O fenômeno da Normalização Forçada foi descrito ao observar, em

pacientes com epilepsia, o desaparecimento de descargas epiléticas no eletroencefalograma, concomitante com o desenvolvimento de sintomas psicóticos. Pelo capítulo sete é demonstrado que o desenvolvimento de novas técnicas de imagem permitiu uma série de evidências relacionando a ocorrência destas descargas epiléticas no sistema límbico e consequente coativação e desativação dessas “redes de estado de repouso”. No entanto, ainda há muitas controvérsias sobre os mecanismos básicos das alterações de redes relacionadas ao controle emocional, concluindo pela necessidade de uma metodologia de estudo mais homogênea para explicar esse interessante fenômeno neuropsiquiátrico com maior precisão.

Iniciando a seção de Infectologia, por meio do capítulo oito foi tratado sobre o HIV/AIDS e o frequente comprometimento do desempenho das atividades diárias. Foi avaliada a capacidade de acesso lexical em idosos soropositivos em comparação com idosos com HIV/AIDS, concluindo o desempenho inferior destes últimos. O estudo reforça a importância de avaliar precocemente as funções cognitivas para manter a independência e a qualidade de vida do idoso com HIV/AIDS.

Pelo capítulo nove são identificadas as alterações na atividade das enzimas hepáticas devido à infecção pelos vírus da hepatite B ou C. Foram aplicados metabonômicos baseados em espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio concluindo-se pela capacidade de distinguir pacientes com e sem alterações da atividade sérica da AST e da ALT decorrentes da infecção crônica. Foi possível ainda indicar a classe de compostos associada à discriminação, mostrando assim mais uma aplicação potencial da estratégia metabonômica na prática clínica, permitindo uma análise mais profunda do processo de investigação da doença hepática desses pacientes.

Desejo uma boa leitura!

Marcia Alessandra Arantes Marques.

SUMÁRIO

SEÇÃO 1: ÁREA PRÉ-CLÍNICA

CAPÍTULO 114

CIMENTO PBS@CIMMO EM PREENCHIMENTO DE FALHAS ÓSSEAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS: PARTE I

Christiano Cândido Zerbinati

José Dias da Silva Neto

Daniela Francescato Veiga

Taylor Brandão Schnaider

DOI 10.53268/BKF21120201

CAPÍTULO 227

CIMENTO PBS@CIMMO EM PREENCHIMENTO DE FALHAS ÓSSEAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS: PARTE II

Christiano Cândido Zerbinati

José Dias da Silva Neto

Daniela Francescato Veiga

Taylor Brandão Schnaider

DOI 10.53268/BKF21120202

CAPÍTULO 337

PAPEL DO MICRORNA-26A NO REPARO DO TECIDO RENAL EM MODELO DE LESÃO RENAL AGUDA

Pedro Paulo Gattai Gomes

DOI 10.53268/BKF21120203

CAPÍTULO 452

EFEITO CARDIOPROTETOR DO COMPLEXO DE INCLUSÃO CARVACROL/ β -CICLODEXTRINA NA LESÃO DE REPERFUSÃO CARDÍACA

Francielle Feitosa Dias Santos

Sandra Lauton Santos

Enilton Aparecido Camargo

Paula Dos Passos Menezes

Adriano Antunes De Souza Araújo

DOI 10.53268/BKF21120204

SEÇÃO 2: ÁREA CLÍNICA: PSIQUIATRIA E NEUROLOGIA

CAPÍTULO 567

PRONTIDÃO PARA A MUDANÇA DE COMPORTAMENTO DE DEPENDENTES QUÍMICOS DE ÁLCOOL EM TRATAMENTO EM CAPS AD

Roberto Mendes dos Santos

Murilo Duarte da Costa Lima

DOI 10.53268/BKF21120205

CAPÍTULO 6	80
COMORBIDADES PSIQUIÁTRICAS EM EPILEPSIA	
José Augusto Bragatti	
DOI 10.53268/BKF21120206	
CAPÍTULO 7	97
NORMALIZAÇÃO FORÇADA: REENCONTRO ENTRE NEUROLOGIA E PSIQUIATRIA	
José Augusto Bragatti	
DOI 10.53268/BKF21120207	
SEÇÃO 3: ÁREA CLÍNICA: INFECTOLOGIA	
CAPÍTULO 8	111
CAPACIDADE DE ACESSO LEXICAL EM IDOSOS PORTADORES DO VÍRUS HIV	
Maria Fernanda Siqueira Houtet	
Viviane dos Santos Marques	
DOI 10.53268/BKF21120208	
CAPÍTULO 9	124
IDENTIFICAÇÃO DE ALTERAÇÕES NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS HEPÁTICAS EM PACIENTES COM INFECÇÃO CRÔNICA PELOS VÍRUS DA HEPATITE B OU C POR METABONÔMICA BASEADA EM RMN DE 1H	
Joelma Carvalho Santos	
Liana Ribeiro Gouveia	
Andrea Dória Batista	
Izolda Maria Fernandes de Moura	
Michele Maria Gonçalves de Godoy	
Edmundo Pessoa de Almeida Lopes	
Ricardo Oliveira Silva	
DOI 10.53268/BKF21120209	
ÍNDICE REMISSIVO	140
SOBRE A ORGANIZADORA	144



ÁREA PRÉ-CLÍNICA

SEÇÃO 1

CIMENTO PBS®CIMMO EM PREENCHIMENTO DE FALHAS ÓSSEAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS: PARTE I

Christiano Cândido Zerbinati

lattes.cnpq.br/4625590928806248

Universidade do Vale do Sapucaí,
Pouso Alegre/MG

José Dias da Silva Neto

lattes.cnpq.br/7846860234083476

Universidade do Vale do Sapucaí,
Pouso Alegre/MG

Daniela Francescato Veiga

lattes.cnpq.br/1695706360514926

Universidade do Vale do Sapucaí,
Pouso Alegre/MG

Taylor Brandão Schnaider

lattes.cnpq.br/2074250108356045

Universidade do Vale do Sapucaí,
Pouso Alegre/MG

RESUMO - As extrações dentárias originam falhas ósseas, alvéolos frescos. Condições clínicas que exigem abordagem com instalação de implantes e reabilitação estética através de próteses sobre os implantes. Este procedimento reabilitador chama-se carga imediata e a condição para que seja possível ser realizada é a estabilidade

primária dos implantes. Objetivo: Avaliar cimento PBS®CIMMO no preenchimento de falhas ósseas. Métodos: Trinta e seis ratos Wistar adultos machos foram organizados em três Grupos de doze indivíduos cada (Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3). Aprovação CEUA parecer 265/17. Em todos os Grupos realizou-se uma falha óssea no fêmur com as dimensões de 2,0 mm de largura por 7,0 mm de profundidade. No Grupo 1, aplicou-se o cimento PBS®CIMMO na falha óssea produzida e instalou-se implante de titânio (CONEXÃO®) medindo 1,5mm de espessura e 6mm de comprimento na cavidade. No Grupo 2, aplicou-se o cimento PBS®CIMMO na cavidade. No Grupo 3 realizou-se apenas a falha óssea. Resultados: Realizou-se os testes de Kruskal Wallis para cada área e comparou-se a média dos três Grupos. Foi aplicado o teste Dunn que comparou a média de cada Grupo entre si: Grupo 1 com Grupo 2, Grupo 1 com Grupo 3 e Grupo 2 com Grupo 3. Em todas as comparações ocorreu significância para o Grupo 2 $p = 0,0014$. Conclusão: O cimento PBS®CIMMO induziu neoformação óssea e observou-se integração osso neoformado, cimento e parafuso de titânio.

PALAVRAS-CHAVE: Carga Imediata em Implante Dentário; Implantação Dentária Endo-Óssea; Regeneração Tecidual Guiada Periodontal; Substitutos Ósseos; Cimentos para Ossos; Compostos Inorgânicos.

1. INTRODUÇÃO

A Implantodontia e Ortopedia em sua prática, deparam-se com situações em que existem alterações da continuidade óssea, falhas ósseas, perda óssea segmentar ou fraturas, especialmente, devido aos traumatismos de alta energia, tumores, infecções, malformações congênitas e fraturas radiculares que ocasionam alvéolos dentais frescos após as exodontias. As alternativas para a reparação das falhas ósseas incluem a utilização dos vários tipos de enxertos ósseos. O transporte ósseo e os implantes de biomateriais, dentre os quais os materiais metálicos, as cerâmicas e os biopolímeros (IGNÁCIO *et al.*, 2002) e a instalação de implantes dentários, associados ou não aos enxertos e aos biomateriais, em alvéolos frescos ou processos alveolares cicatrizados restabelecem a função, a estética, melhora da autoestima e o convívio social (ATIEH *et al.*, 2015; GUARNIERI *et al.*, 2017; IOCCA *et al.*, 2017).

Um problema constante na prática clínica da implantodontia é a indicação de exodontia de elementos dentários na região estética. Alvéolos frescos de elementos dentários recém-extraídos são falhas ósseas que requerem atenção especial dos clínicos, pois na maioria dos casos, é imprescindível uma reconstrução estética imediata com a instalação de implantes e confecção de prótese provisória ou definitiva do elemento perdido associando ou não aos enxertos ósseos autólogos, homólogos ou alógenos. O momento da exodontia é o melhor período de reconstrução alveolar. Ao empregar-se biomateriais para preservação da arquitetura do alvéolo - altura e largura – melhora-se os resultados na reabilitação com implantes dentais (ATIEH *et al.*, 2015; GUARNIERI *et al.*, 2017; IOCCA *et al.*, 2017).

Esse conhecimento aplica-se aos alvéolos frescos de elementos dentários recém-extraídos, que sem uma gestão reabilitadora funcional imediata do elemento perdido, vai se remodelar durante o processo cicatricial, resultando em diminuição da margem alveolar, constituindo falhas ósseas de elevado nível de dificuldade na reconstrução e reabilitação com implantes dentais (ARAUJO *et al.*, 2005; ATIEH *et al.*, 2015; GUARNIERI *et al.*, 2017; IOCCA *et al.*, 2017). Porém, ao contrário do que se acreditou por muito tempo na atividade da Implantodontia, apenas a instalação de implantes imediatos nos alvéolos frescos de dentes recém-extraídos não garante a estabilidade dimensional da margem alveolar, que parece existir devido à presença do elemento dentário e suas fibras de sustentação. Com ou sem a instalação do implante, o osso alveolar se remodelará e perdas dimensionais de altura e largura serão observadas (ARAUJO *et al.*, 2005).

Atualmente, a realização de implantes imediatos é reportada nas

referências como a melhor e mais rápida forma de preservar a margem alveolar e reabilitar o paciente.

Entretanto, a indicação dessa modalidade de tratamento é dependente de diversos fatores, com a existência de um suporte ósseo apical adequado, presença de tábua óssea vestibular, fenótipo gengival favorável, e outros (NÓIA e SÁ, 2017). Sendo assim, uma preocupação constante dos profissionais da Implantodontia está relacionada ao tratamento daqueles pacientes cujo remanescente alveolar não atende aos requisitos para uma implantação imediata. Os implantes instalados sobre “carga imediata” requerem atributos do osso suporte a fim de que se obtenha a estabilidade primária: justaposição do implante às paredes do alvéolo cirúrgico. A estabilidade primária dos implantes osteointegráveis pode ser conceituada como a estabilidade mecânica, solidez, rigidez e resistência ao movimento do implante obtida no momento da inserção. A estabilidade primária aumenta com o aumento da resistência para a inserção do implante (ROCHA e ELIAS, 2010; CHRISTIAENS *et al.*, 2020).

As instalações dos implantes imediatos, em alvéolos frescos, geram espaços entre a superfície do implante e a tábua óssea vestibular. As reconstruções de alvéolos frescos – preenchimento desses espaços - têm sido usadas com a finalidade de manter as dimensões de altura e largura, porém estes procedimentos não aumentam a estabilidade primária dos implantes (TURKYILMAZ, 2006; AL KUDMANI *et al.*, 2017; ATIEH *et al.* 2021).

Atualmente, o uso do enxerto ósseo autógeno é considerado como procedimento padrão e ideal no manejo dessas complicações. Suas propriedades de osteoindução, osteocondução e osteogênese são fundamentais para tal (LANE *et al.*, 1999; GIORDANO *et al.*, 2000; SALAMANCA *et al.*, 2017).

No entanto, desvantagens nesse procedimento têm sido repetidamente apontadas, tais como: estoque ósseo inadequado, queixas relacionadas ao sítio doação (YOUNGER e CHAPMAN, 1989). A disponibilidade limitada pode gerar preenchimentos incompletos dos defeitos, requerendo mais procedimentos cirúrgicos com o aumento da morbidade (SALAMANCA *et al.*, 2017). Portanto, há necessidade da busca de substitutos que mimetizem as funções principais do enxerto ósseo autógeno. Diversos biomateriais vêm sendo testados com essa finalidade; entretanto, a ausência, principalmente de características osteoindutoras relacionadas à bioatividade, têm frustrado os pesquisadores na maioria dos produtos estudados (TORABINEJAD *et al.*, 2017).

Um biomaterial ideal seria aquele que fosse biocompatível, bioativo, e tivesse a propriedade de aumentar a estabilidade primária nas implantações imediatas. Autores têm demonstrado características osteoindutoras e osteocondutoras capazes de induzir neoformação óssea com o uso desses novos biomateriais (COOK *et al.*, 1998; SALAMANCA *et al.*, 2017).

Há uma ampla aplicação de cimentos ortopédicos e dentários para os mais diversos fins dentro das ciências biomédicas. Os biomateriais com características de biocompatibilidade e bioatividade são cada vez mais aprimorados e utilizados para aplicações médica e odontológicas (SOARES, 2006; TORABINEJAD *et al.*, 2017). O advento dos cimentos biológicos determinou a implantação de uma nova era na odontologia. É importante compreender que estes cimentos são alternativas biocompatíveis e eficientes para serem usados em casos não convencionais, como qualquer perfuração na área perirradicular; perfuração de furca, zips (desvios da luz do canal com perfuração lateral), arrombamento de forame, rizogênese incompleta, capeamento pulpar direto, pulpotomias, trincas radiculares causadas por trauma, abscessos alveolares com indicação de retratamento endodôntico, retroobturações e casos de destruição grande da dentina (SILVA NETO *et al.*, 2010; SILVA NETO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016; BOCZAR *et al.*, 2018).

A base destes cimentos é o cimento Portland utilizado na construção civil, que tem como matéria prima o calcário. O primeiro cimento biológico a surgir na odontologia foi o MTA (agregado, trióxido, mineral) cimento composto por cimento portland comum acrescido de óxido de bismuto, agente radiopacificador. As marcas comerciais deste cimento são: Pro Root Dentsply® e MTA Ângelus®. Ambos têm a desvantagem do custo ser alto, como também a presença do óxido de bismuto que confere ao cimento radiopacidade, no entanto deixa o cimento friável e com baixa resistência à compressão e apresenta chumbo em sua composição (PARIROKH e TORABINEJAD, 2010; TORABINEJAD *et al.*, 2017).

Estudos recentes determinaram desenvolvimento de cimento biológico com a mesma base do MTA, no entanto, com o acréscimo de aditivos (elementos naturais responsáveis pelo aumento da resistência do cimento) e sem radiopacificador, elemento que interfere na propriedade resistência do cimento, requisito importante devido à necessidade de resistência às forças mastigatórias. Este cimento foi patenteado pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial- INPI, em Junho de 2013 e publicado em Novembro de 2015 (patente no. BR10 2013 031603-2 A2). O pedido de marca para o cimento PBS foi arquivado no INPI (processo n. 909673667) em julho de 2015 e o cimento médico está atualmente na fase de industrialização autorizado para comercialização, publicada no diário Oficial da União N° 226, segunda-feira, 27 de novembro de 2017. Cimento PBS®CIMMO (Pozolana, Biológico, Silva) (SILVA *et al.* 2016; BOCZAR *et al.*, 2018).

Desenvolveu-se inicialmente modelo experimental para avaliar a ação biológica reparadora deste cimento, em lesões de furca experimentais, em dentes de cães (SILVA NETO *et al.*, 2010). Este estudo calibrou instrumentos para realização de trabalho maior para definir a capacidade regeneradora do cimento em lesão de furca (SILVA NETO *et al.*, 2012). A partir deste ponto, desenvolveu-se possibilidade de realização de estudo

clínico com finalidade de avaliação da regeneração de dentes submetidos a cirurgia parendodôntica, retroobturados com cimento MTA Ângelus e cimento aditivado (SILVA *et al.*, 2015). Os resultados demonstraram que o uso clínico do cimento PBS@CIMMO é viável porque produz a regeneração óssea e das estruturas de ligamento periodontal, além de ter resistência devido à presença de aditivos, que se mantém a longo prazo, devido à ausência em sua composição de radiopacificador (SILVA *et al.*, 2016; BOCZAR *et al.*, 2018).

Os resultados destes e outros estudos suportam a ideia de que o cimento PBS® CIMMO, tem potencial para ser utilizado nas situações clínicas similares àquelas em que se utiliza aloenxertos e sulfato tricálcico (ZERBINATTI *et al.*, 2019). Propõe-se estudo experimental com utilização deste cimento, para preenchimento de falhas ósseas experimentais simulando alvéolos frescos de elementos dentários, almejando possibilidade de realização de implantes imediatos.

2. OBJETIVO

Avaliar a ação do cimento PBS®CIMMO em preenchimento de falhas ósseas em ratos.

3. MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de pesquisa experimental primária, longitudinal, prospectiva e analítica. O projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e aprovado sob o parecer 265/17.

3.2 Procedimento para coleta dos dados

Trinta e seis ratos *Wistar* machos com peso médio de 350 a 450g, adquiridos da empresa Anilab Animais de Laboratório Criação e Comércio Ltda, credenciada pelo CONCEA (Anexo2), foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo claro/escuro de 12h, (luz após as 7:00 horas) e água *ad libitum* no biotério da UNIVÁS, após cumprimento do período de quarentena.

Os critérios de inclusão foram: ratos machos, peso médio de 350 a 450g, animais que apresentaram saúde e atividade normais durante o período de quarentena.

Os critérios de não inclusão foram: ratos fêmeas, peso fora de 350 a 450g, estipulado em critérios de inclusão.

Os critérios de exclusão foram: ratos que vieram a óbito ou apresentaram diarreia e abscesso durante o experimento.

Os animais foram organizados em 3 (três) Grupos de 12 (doze) animais cada, N=12, conforme planejamento estatístico fundamentado em literatura (NORMANDO *et al.*, 2010). Para estabelecer padrões de técnica cirúrgica experimental, de forma preliminar, realizou-se planejamento de técnica cirúrgica fundamentada em anatomia de ratos e em literatura (BRITO *et al.*, 2009; QUINTERO *et al.*, 2010; SIQUEIRA *et al.*, 2015). Os padrões estabelecidos foram ilustrados através de desenhos esquemáticos de acordo com o planejamento idealizado.

Três animais, um de cada Grupo foram submetidos aos protocolos iniciais e cirúrgicos para calibração de instrumentos. Estudo piloto realizado pelos alunos Graduandos em Medicina da UNIVAS.

3.4 Protocolo cirúrgico

O alojamento foi realizado em gaiolas individuais onde os ratos receberam alimentação balanceada com ração comercial própria para a espécie (ANEXO 1) e água *ad libitum*. O responsável pelo confinamento realizou diariamente a higienização do local, assim como a alimentação, nos períodos anterior e posterior à etapa experimental. Durante a semana precedente à etapa experimental, foi realizado exame clínico minucioso por Médico Veterinário qualificado, executando cuidados relativos a vacinas e dieta.

Realizou-se a antibioticoprofilaxia e terapia com Pentabiótico (Antibiótico para animais de pequeno porte) benzilpenicilina benzatina (600.000 UI), benzilpenicilina procaína (300.000 UI), benzilpenicilina potássica (300.000 UI), sulfato de dihidroestreptomicina (250mg) e sulfato de estreptomicina (250 mg), por via oral, na dose de 1mg/kg de peso, a cada 12 horas, com início 24 horas antes do procedimento cirúrgico e mantido por 7 dias.

A sedação foi realizada com cloridrato de cetamina (70mg/kg) (Ketalar® 10%, Pfizer, São Paulo) e cloridrato de xilazina (6mg/kg) (Rompum® 2% - Bayer SA) via intramuscular. A tricotomia foi realizada na região do fêmur com aparelho de barbear (GILLETE®) em seguida anestesia infiltrativa local (12,5mg/kg) de bupivacaína (Neocaína® 5% - Cristália). A respiração foi espontânea.

Foram realizados cuidados de ordem geral: a assepsia e degermação das mãos e antebraços e paramentação da equipe cirúrgica com *Kit* cirúrgico descartável, estéril de tecido TNT (Suprimed®). Foi realizada a degermação da pele com clorexidina degermante a 2% (Diclonato de Clorexidina – Riohex) 2%.

GRUPO 1

Após infiltração anestésica, realizou-se a tricotomia e o acesso ao

fêmur mediante a uma incisão linear cutânea, medindo aproximadamente 3 cm de extensão com lâmina de bisturi n. 15 (Swann-Morton®), foi descolado o retalho com descolador de *Molt 2/4* e dissecação com tesoura romba até exposição do fêmur. Foi produzido um defeito simulando uma falha óssea análoga a um alvéolo dental na região proximal da superfície do fêmur utilizando uma broca lança de diâmetro máximo de 2,0 mm de largura e 7 mm de profundidade mediante um ângulo de perfuração de 45 graus em relação à superfície do fêmur através de contra ângulo de redução 20:1, com motor elétrico programado a 1200 RPM (KAVO®) e irrigação constante com soro fisiológico. Após limpeza, o cimento PBS®CIMMO foi manipulado com água destilada através de espátula flexível sobre placa de vidro estéreis, segundo recomendação do fabricante e inserido à cavidade. Neste momento, antes do endurecimento do cimento, foi instalado um implante de ancoragem ortodôntica (CONEXÃO®) medindo 1,5mm de espessura e 6mm de comprimento, utilizando uma chave de instalação manual (CONEXÃO®). Em seguida, o perióstio foi reposicionado e a sutura interna foi realizada por pontos simples com fio poligalactina 910c (Vicryl® 4.0) J&J. A sutura externa da derme foi realizada com fio mononylon (4-0) – (SHALON®).

GRUPO 2

Após infiltração anestésica, foi realizada a tricotomia e o acesso ao fêmur mediante a uma incisão linear cutânea, medindo aproximadamente 3 cm de extensão com lâmina de bisturi n. 15 (Swann-Morton®), foi descolado o retalho com descolador de *Molt 2/4* e dissecação com tesoura romba até exposição do fêmur. Foi produzido um defeito simulando uma falha óssea semelhante a um alvéolo dental na região proximal da superfície do fêmur utilizando uma broca lança de 2.0 mm de largura e 7 mm de profundidade, mediante ângulo de perfuração de aproximadamente 45 graus em relação à superfície do fêmur com o uso de contra ângulo de redução 20:1 com motor elétrico programado a 1200 RPM (KAVO®) e irrigação constante com soro fisiológico. Após limpeza, o cimento PBS®CIMMO foi manipulado com água destilada através de espátula flexível sobre placa de vidro estéreis, segundo recomendação do fabricante e inserido à cavidade. Em seguida, o perióstio foi reposicionado e a sutura interna foi realizada por pontos simples com fio poligalactina 910c (Vicryl® 4.0) J&J. A sutura externa da derme foi realizada com fio mononylon (4-0) –(SHALON®).

GRUPO 3 (CONTROLE)

Após infiltração anestésica, foi realizada a tricotomia e o acesso ao fêmur mediante a uma incisão linear cutânea, medindo aproximadamente 3 cm de extensão com lâmina de bisturi n. 15 (Swann-Morton®), foi descolado o retalho com descolador de *Molt 2/4* e dissecação com tesoura romba até exposição do fêmur. Foi produzido um defeito de modo a simular uma falha

óssea semelhante a um alvéolo dental na região proximal da superfície fêmur utilizando uma broca lança de 2,0 mm de largura e 7 mm de profundidade mediante um ângulo de perfuração de aproximadamente 45 graus em relação à superfície do fêmur com o uso de contra ângulo de redução 20:1 com motor elétrico programado a 1200 RPM (KAVO®) e irrigação constante com soro fisiológico. Em seguida, o periósteo foi reposicionado e a sutura interna foi realizada por pontos simples com fio poligalactina 910c (Vicryl®4.0) J&J. A sutura externa da derme foi realizada com fio mononylon (4-0) – (SHALON®) (Figura 1).

Figura 1: Implante de titânio instalado.



Após 8 semanas da realização da cirurgia, foram colhidos os materiais para análises após a eutanásia dos animais. O procedimento de eutanásia seguiu o protocolo de sedação com Cloridrato de Xilazina (6mg/kg) - Injeção intramuscular e anestesia geral com Cloridrato de Cetamina (70mg/kg) - Injeção intramuscular (Anestesia Geral). Logo pós a anestesia geral, os animais foram eutanasiados com injeção intracardíaca de Cloreto de Potássio (19,1% a 2ml/kg).

A seguir, foi removida a área enxertada do fêmur dos animais com dissecação do osso. As peças foram identificadas, fotografadas e acondicionadas em recipientes de plástico com tampa, contendo substância descalcificadora (558 ml de formol a 10% e 42 ml de ácido nítrico a 65%). O período necessário para o processo de desmineralização foi de 15 dias. As peças foram submetidas à rotina histológica, sendo lavadas em água corrente por 24 horas e incluídas em parafina. Os blocos, dispostos longitudinalmente, foram reduzidos para facilitar a microtomia, em cortes seriados com espessura de seis micrômetros, sendo corados com Hematoxilina e Eosina

(HE). O trabalho de análise histomorfológico foi realizado pelo departamento de biologia da UNIVÁS. Realizou-se estudo de iniciação científica que definiu metodologia de preparo histológico e histomorfológico.

3.5 Processamento histológico

As peças ósseas foram fixadas em formol a 10% em tampão de fosfato em pH de 7,2. Em seguida, foram descalcificadas em solução de EDTA a 10% durante 15 dias.

Posteriormente, as peças passaram pelo processo laboratorial de rotina para inclusão em parafina. Para tanto, foram submetidas a lavagem em água corrente por 1 hora, seguido do processo de desidratação em bateria alcoólica crescente (Etanol 70%, Etanol 95%, Etanol Absoluto I, Etanol Absoluto II e Etanol Absoluto III – 1 hora em cada banho). A clarificação foi realizada em dois banhos de xilol, e posteriormente procedeu a impregnação em parafina pura em estufa a 65°C por três banhos consecutivos por 1 hora em cada. E por fim, a inclusão foi realizada em moldes apropriados.

Obtidos os blocos, foram realizados cortes transversais com espessura de 4 micrômetros em micrótomo rotativo, resultando em cortes semi-seriados que foram submetidos à coloração pela hematoxilina e eosina.

Para coloração, os cortes foram desparafinizados em três banhos de xilol e hidratados em série alcoólica decrescente (Etanol Absoluto I, Etanol Absoluto II, Etanol Absoluto III, Etanol 95%, Etanol 70% (1 minuto em cada) seguido de lavagem em água corrente por 1 minuto. A coloração primária foi realizada em hematoxilina de *Harris* por 2 minutos. Para contra-coloração, foi utilizada Eosina Alcoólica por 2 minutos antecedido da semi-desidratação dos cortes em etanol 70%.

Por fim, as lâminas foram desidratadas em série etanólica crescente, clarificadas em xilol, limpadas e montadas permanentemente em verniz sem lamínula para melhor visualização.

O preparo para as lâminas do Grupo 1 iniciou-se com o processo de desidratação, mergulhando as peças em álcool 70 por 24 horas e posteriormente em álcool a 100%, realizando a troca após 24, 48 e 56 horas, facilitando a penetração da resina. Após este processo, realizou-se a diafanização, que consistiu em mergulhar as peças em xilol por 48 horas (trocando a solução após as primeiras 24 horas), para remoção das impurezas. A inclusão foi realizada com a imersão das amostras em frasco de vidro com tampa, de aproximadamente 20ml, que serviu de molde para a resina. As peças permaneceram de 5 a 6 dias mantidas em geladeira, em solução de 25% de dibutilftalato e 75% de metilmetacrilato. Para ativação da resina utilizou-se 1% de peróxido de benzoila, por 4 a 6 dias. Após sua polimerização, foram levadas à estufa a 37° C por 48 horas e o vidro quebrado para obtenção de um bloco endurecido. O frasco foi quebrado, e obteve-se um bloco retangular com o auxílio de serra, sendo respectivamente lixado e identificado, estando pronto para a microtomia que foi

executada manualmente a fim de se preservar as estruturas de osso e implante de titânio. Por este mesmo motivo e devido à dificuldade em cortar-se o titânio, as peças foram incluídas em resina, o que não alterou os resultados das análises histológicas e histomorfológicas.

3.6 Análise histológica

A região lesionada foi avaliada por microscopia óptica, a fim de avaliar a presença de processos reacionais de reparo e/ou inflamação. A presença dos seguintes constituintes celulares e teciduais também foram considerados: tecido conjuntivo, fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos e osteoide.

3.7 Análise histomorfológica

Para morfometria, foram capturadas imagens com a câmera digital *Moticam M1000*, acoplada ao microscópio óptico, utilizando o *software Motic Images Plus*. As imagens foram capturadas em aumento do 100x, e exportadas em formato *Bitmap*. Para cada amostra, foram selecionadas três regiões distintas para realização das fotomicrografias.

As áreas de reparo foram avaliadas pela mensuração manual através do *software ImageJ* versão 1.51 (*National Institute of Health, USA*). Para tanto, os arquivos foram importados para o *software*. O tecido de preenchimento da lesão foi selecionado mediante a função de *Color threshold*. Os intervalos de cor, saturação e brilho foram ajustados a fim de que a maior área do tecido fosse selecionada, excluindo as áreas não preenchidas. Os valores de área foram obtidos pela função *Measure* e submetidos à análise estatística.

As lâminas do Grupo 1 foram reprocessadas através de desgaste e coradas novamente com *Stevenel's Blue*, a fim de proporcionar condição de realizar-se análise do tipo de célula encontrada em meio à estrutura cimento/pino.

3.8 Planejamento estatístico

Foram realizados os testes *Kruskal-Wallis* em conjunto com o teste *Dunn*. Considerou-se em todos os testes, o nível de significância de 5%. O *software* utilizado foi o SPSS.

REFERÊNCIAS

AL KUDMANI, H.; AL, J.; ANDREANA, S. (2017). **Is Bone Graft or Guided Bone Regeneration Needed When Placing Immediate Dental Implants?** A Systematic Review. *Implant dentistry*. v. 26, n. 6, p. 346-354, 2017.

ARAÚJO, M.G.; SUKEKAVA, F.; WENNSTROM, J. L.; LINDHE, J. (2005). **Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog.** *J Clin Periodontol*, v. 32, p. 645–652, 2005.

ATIEH, M.A.; ALSABEEHA, N. H. M.; PAYNE, A. G. T.; DUNCAN, W.; FAGGION, C. M.; ESPOSITO, M. (2015). **Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development.** Cochrane Database of Systematic Reviews, v. 28, n. 5, p. 712-717, 2015

ATIEH, M. A.; SHAH, M.; ABDULKAREEM, M.; ALQAHTANI, H. A.; ALSABEEHA, N. H. M. (2021). **The socket shield technique for immediate implant placement: A systematic review and meta-analysis.** J Esthet Restor Dent. 2021.

BOCZAR, R. M. L.; SILVA, S. R.; ALVES, L. O; ZOTARELLI FILHO, I. J.; SILVA NETO, J.D. (2018). **Single Element In Obturation With Endodontic Retreatment With PBS® CIMMO Cement In Alveolar Tooth Abscess - Case Report.** WULFENIA. v. 25, n. 2; p. 119-128, 2018.

BRITO, A. T.; ROSA, B. T.; NOGUEIRA-FILHO, G. R.; TODESCAN, S. M. C. (2009). **Avaliação histométrica em ratos do efeito da fumaça da cannabis (maconha) no reparo ósseo ao redor de implantes de titânio.** R. Periodontia, v. 19, n. 2, p.100-108, 2009.

CHRISTIAENS, V.; PITMAN, J.; GLIBERT, M.; HOMMEZ, G.; ATASHKADEH, M.; DE BRUYN, H. (2020). **Rationale for a reverse tapered body shift implant for immediate placement.** Int J Oral Maxillofac Surg, v. 49, n. 12, p.1630-1636, 2020. doi: 10.1016/j.ijom.2020.04.007. Epub 2020 May 4. PMID: 32371178.

COOK, S. D.; SALKELD, S. L.; BRINKER, M. R.; WOLFE, M. W.; RUEGER, D. C. (1998). **Use of an osteoinductive biomaterial (rhOP-1) in healing large segmental bone defects.** J Orthop Trauma. v. 12, n. 6, p. 407-412, 1998.

GIORDANO, V.; GIORDANO, M.; KNACKFUSS, I. G. (2000). **Fatores de crescimento e diferenciação ósseos.** Efeitos sobre o processo de consolidação de fratura: presente e futuro. RBM Rev. Bras. Med, v. 57, n. 9, p.1018-1029, 2000.

GUARNIERI, R.; STEFANELLI, L.; DE ANGELIS, F.; MENCIO, F.; POMPA, G.; DI CARLO, S. (2017). **Extraction Socket Preservation Using Porcine-Derived Collagen Membrane Alone or Associated with Porcine-Derived Bone.** Clinical Results of Randomized Controlled Study. Journal of Oral & Maxillofacial Research. v. 8, n. 3, e5.

IGNÁCIO, H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; CHIERICE, G. O. (2002). **Utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães*.** Rev. Bras. Ortopedia, 2002.

IOCCA, O.; FARCOMENI, A.; PARDIÑAS-LOPEZ, S.; TALIB, H. S. (2017). **Alveolar ridge preservation after tooth extraction: a Bayesian Network meta-analysis of grafting materials efficacy on prevention of bone height and width reduction.** J Clin Periodontol, v. 44, p. 104–114, 2017.

LANE, J. M.; YASKO, A. W.; TOMIN, E.; COLE, B. J.; WALLER, S.; BROWNE, M.; TUREK, T.; GROSS, J. (1999). **Bone marrow recombinant human bone**

morphogenetic protein-2 in osseous repair. Clin. Orthop. Relat, v. 361, p. 216-227, 1999.

NÓIA, C. F.; SÁ, B. C. M. (2017). **Preservação do rebordo alveolar através de membranas não reabsorvíveis.** Full Dent. Sci, v.8, n. 32, 2017. doi 10.24077/2017;832-814.

NORMANDO, D.; TJÄDERHANE, L.; QUINTÃO, C. C. A. (2010). **A escolha do teste estatístico** - um tutorial em forma de apresentação em PowerPoint. Dental Press J. Orthod, v. 106, n. 1, p. 101-106, 2010.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. (2010). **Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review - Part III: Clinical Applications, Drawbacks, and Mechanism of Action.** JOE – v. 36, n. 3, 2010.

QUINTERO, D. G.; WINGER, J. N.; KHASHABA, R.; BORKE, J. L. (2010). **Advanced Glycation Endproducts and Rat Dental Implant Osseointegration,** Journal of Oral Implantology. v. 36, n. 2, p.97-103, 2010.

ROCHA, F. A.; ELIAS, C. N. (2010). **Influência da Técnica Cirúrgica e da Forma do Implante na Estabilidade Primária.** Rev Odontol Bras Central, v. 18, n. 48, p. 26-29, 2010.

SALAMANCA, E.; PAN, Y. H.; TSAI, A. I.; LIN, P. Y.; LIN, C. K; HUANG, H. M.; CHANG, W. J. (2017). **Enhancement of Osteoblastic-Like Cell Activity by Glow Discharge Plasma Surface Modified Hydroxyapatite/ β -Tricalcium Phosphate Bone Substitute.** Materials, 20(12) 1347-1352, 2017.

SILVA, S. R.; SILVA NETO, J. D.; NOVO, N. F.; VEIGA, D. F.; SCHNAIDER, T.; FERREIRA, L. M. (2015) **Portland cement versus MTA as a root-end filling material.** A pilot study Acta Cir Bras. v. 30, n. 2, p. 160-164, 2015.

SILVA, S. R.; SILVA NETO, J. D.; SCHNAIDER, T. B.; VEIGA, D. F.; NOVO, N. F.; MESQUITA FILHO, M.; FERREIRA, L. M. (2016). **The use of a biocompatible cement in endodontic surgery. A randomized clinical trial 1.** Acta Cir. Bras, v. 31, n. 6, p. 422-427, 2016.

SILVA NETO, J. D.; BRITO, R. H.; SCHNAIDER, T. B.; GRAGNANI, A.; ENGELMAN, M.; FERREIRA, L. M. (2010). **Root perforations treatment using mineral trioxide aggregate and Portland cements.** Acta Cir Bras. v. 25, p. 479-484, 2010.

SILVA NETO, J. D.; SCHNAIDER, T. B.; GRAGNANI, A.; PAIVA, A. P.; NOVO, N. F.; FERREIRA, L. M. (2012). **Portland cement with additives in the repair of furcation perforations in dogs.** Acta Cir Bras, v. 27 p. 809-814, 2012.

SIQUEIRA, C. R.; SEMENOFF, T. A.; PALMA, V. C.; BORGES, Á. H.; SILVA, N. F.; SEGUNDO, A. S. (2015). **Effect of chronic stress on implant osseointegration into rat's mandible.** Acta Cir. Bras, v. 30, n. 9, p. 598-603, 2015.

SOARES, C. **Síntese e Caracterização de Biocimentos Nanoestruturados para Aplicações Biomédicas**. (2006). Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – PGCEM da Universidade de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

TORABINEJAD, M.; PARIROKH, M.; DUMMER, P. M. H. (2017). **Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part II: other clinical applications and complications**. International Endodontic Journal. Ago. 2017.

TURKYILMAZ, I. (2006). **A comparison between insertion torque and resonance frequency in the assessment of torque capacity and primary stability of Brånemark system implants**. J of Oral Rehabil, v. 33, n.10, p. 754-759, 2006.

YOUNGER, E. M.; CHAPMAN, M. W. (1989). **Morbidity at bone graft donor sites**. J. Orthop. Trauma, v. 3, n. 3, p.192-198, 1989.

ZERBINATTI, C. C.; VEIGA, D. F.; OLIVEIRA, M. A.B.; et al. (2019). **Bioceramic cement in the filling of bone defects in rats**. Acta Cir Bras. v. 34, n. 6, 2019.

PBS@CIMMO CEMENT IN FILLING BONE DEFECTS: AN EXPERIMENTAL STUDY IN RATS: PART I

ABSTRACT - Dental extraction causes bone defects, fresh sockets. Clinical conditions that require approach with installation of implants and aesthetic rehabilitation through prostheses on the implants. This rehabilitation procedure is called immediate loading and the condition for it to be performed is the primary stability of the implants. Purpose: To evaluate PBS@CIMMO cement in the filling of bone defects. Methods: Thirty-six adult male Wistar rats were organized into three groups of twelve individuals each (Group 1, Group 2 and Group 3). Approval CEUA opinion 265/17. In all groups, a femoral bone defect with a size of 2.0 mm wide and 7.0 mm deep was performed. In Group 1, the PBS@CIMMO cement was applied to the bone defect produced and a titanium implant (CONNECTION®) measuring 1.5mm thick and 6mm long was installed in the cavity. In Group 2, the PBS@CIMMO cement was applied to the well. In Group 3 only bone failure was performed. Results: Kruskal Wallis tests were performed for each area and the mean of the three groups was compared. The Dunn test was used, comparing the mean of each Group: Group 1 with Group 2, Group 1 with Group 3 and Group 2 with Group 3. In all comparisons, significance was observed for Group 2 $p = 0.0014$. Conclusion: PBS@CIMMO cement induced bone neoformation and integration of neoformed bone, cement and titanium screw was observed.

KEYWORDS: Immediate Dental Implant Loading; Dental Implantation; Endosseous; Guided Tissue Regeneration; Periodontal; Bone Substitutes; Bone Cements; Inorganic Chemicals.

CIMENTO PBS®CIMMO EM PREENCHIMENTO DE FALHAS ÓSSEAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS: PARTE II

Christiano Cândido Zerbinati

lattes.cnpq.br/4625590928806248

Universidade do Vale do Sapucaí,
Pouso Alegre/MG

José Dias da Silva Neto

lattes.cnpq.br/7846860234083476

Universidade do Vale do Sapucaí,
Pouso Alegre/MG

Daniela Francescato Veiga

lattes.cnpq.br/1695706360514926

Universidade do Vale do Sapucaí,
Pouso Alegre/MG

Taylor Brandão Schnaider

lattes.cnpq.br/2074250108356045

Universidade do Vale do Sapucaí,
Pouso Alegre/MG

RESUMO - As extrações dentárias originam falhas ósseas, alvéolos frescos. Condições clínicas que exigem abordagem com instalação de implantes e reabilitação estética através de próteses sobre os implantes. Este procedimento reabilitador chama-se carga imediata e a condição para que seja possível ser realizada é a estabilidade

primária dos implantes. Objetivo: Avaliar cimento PBS®CIMMO no preenchimento de falhas ósseas. Métodos: Trinta e seis ratos Wistar adultos machos foram organizados em três Grupos de doze indivíduos cada (Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3). Aprovação CEUA parecer 265/17. Em todos os Grupos realizou-se uma falha óssea no fêmur com as dimensões de 2,0 mm de largura por 7,0 mm de profundidade. No Grupo 1, aplicou-se o cimento PBS®CIMMO na falha óssea produzida e instalou-se implante de titânio (CONEXÃO®) medindo 1,5mm de espessura e 6mm de comprimento na cavidade. No Grupo 2, aplicou-se o cimento PBS®CIMMO na cavidade. No Grupo 3 realizou-se apenas a falha óssea. Resultados: Realizou-se os testes de Kruskal Wallis para cada área e comparou-se a média dos três Grupos. Foi aplicado o teste Dunn que comparou a média de cada Grupo entre si: Grupo 1 com Grupo 2, Grupo 1 com Grupo 3 e Grupo 2 com Grupo 3. Em todas as comparações ocorreu significância para o Grupo 2 $p = 0,0014$. Conclusão: O cimento PBS®CIMMO induziu neoformação óssea e observou-se integração osso neoformado, cimento e parafuso de titânio.

PALAVRAS-CHAVE: Carga Imediata em Implante Dentário; Implantação Dentária Endo-Óssea; Regeneração Tecidual Guiada Periodontal; Substitutos Ósseos; Cimentos para Ossos; Compostos Inorgânicos.

4. RESULTADOS

Os dados obtidos pela análise histomorfométrica das células de neoformação óssea dos grupos 1, 2 e 3 foram obtidos através de medições de três áreas para cada grupo A, B e C.

Realizou-se os testes de *Kruskal Wallis* para cada área e comparou-se a média dos três Grupos. Foi aplicado o teste *Dunn* que comparou a média de cada Grupo entre si: Grupo 1 com Grupo 2, Grupo 1 com Grupo 3 e Grupo 2 com Grupo 3. Os testes foram ilustrados pelas Tabelas 1, 2, 3. Em todas as comparações ocorreu significância para o Grupo 2 **p = 0,0014**. Esta comparação 2 a 2 definiu que o Grupo 2 obteve significância em relação ao 1 e 3.

Através da tabela 1 foram apresentados os resultados gerais obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 nas áreas A, B e C.

Tabela 1: Resultados gerais obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 nas áreas A,B e C após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis*.

	Áreas		
	A	B	C
H	13.1655	11.9324	12.01006
GL	2	2	2
(p) <i>Kruskal-Wallis</i>	0.0014	0.0026	0.0024
CT	280.5000	285.0000	289.0000
CI	271.5000	261.0000	257.0000
C	114.0000	120.0000	120.0000
CT (Posto Médio)	23.3750	23.7500	24.0833
CI (Posto Médio)	22.6250	21.7500	21.4167
C (Posto Médio)	9.5000	10.0000	10.0000

H = *Kruskal – Wallis* qui-quadrado; GL – Graus de Liberdade; (p) – *Kruskal Wallis* = p-valor, CT (Grupo 1); CI (Grupo 2); C (Grupo 3 – Controle).

Através das tabelas 2, 3 e 4 foram apresentados os resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área A, B e C após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis* e comparações pelo método de *Dunn*. Não houve significância.

Tabela 2: Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área A após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis* e comparações pelo método de *Dunn*

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	Z calculado	Z crítico	P
Postos médios CT e CI	0,7500	0,1744	2,394	ns*
Postos médios CT e C	13,8750	3,2259	2,394	< 0,05
Postos médios CI e C	13,1250	3,0515	2,394	< 0,05

ns = não significativo a 5% pelo teste de *Kruskal Wallis* e aplicação do Teste de *Dunn*.

CT (Grupo 1); CI (Grupo 2); C (Grupo 3 – Controle)

Tabela 3: Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área B após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis* e comparações pelo método de *Dunn*

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	Z calculado	Z crítico	P
Postos médios CT e CI	2,0000	0,4650	2,394	ns*
Postos médios CT e C	13,7500	3,1968	2,394	< 0,05
Postos médios CI e C	11,7500	2,7318	2,394	< 0,05

ns = não significativo a 5% pelo teste de *Kruskal Wallis* e aplicação do Teste de *Dunn*.

CT (Grupo 1); CI (Grupo 2); C (Grupo 3 – Controle).

Tabela 4: Resultados obtidos a partir das análises do Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3 na área C após a aplicação do teste de *Kruskal Wallis* e comparações pelo método de *Dunn*

Comparações (método de Dunn)	Dif. Postos	Z calculado	Z crítico	P
Postos médios CT e CI	2,6667	0,6200	2,394	ns*
Postos médios CT e C	14,0833	3,2743	2,394	< 0,05
Postos médios CI e C	11,4167	2,6543	2,394	< 0,05

ns = não significativo a 5% pelo teste de *Kruskal Wallis* e aplicação do Teste de *Dunn*.

CT (Grupo 1); CI (Grupo 2); C (Grupo 3 – Controle).

Na Tabela 5 está demonstrada a quantificação em *pixels* das células de neoformação óssea de CT no Grupo 1, como também a descrição de presença e ausência de células específicas nas áreas A, B e C.

Tabela 5: Quantificação em *pixels* das células de neoformação óssea de CT (Grupo 1) e descrição de presença e ausência de células específicas nas áreas A, B e C

Amostra	Áreas			Células específicas						
	A	B	C	Osteoblastos	Osteoclastos	Tecido conjuntivo	Fibroblastos	Osteóide	Inf Inflamatório	Reparo
1	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
2	0	0	16909	P	A	P	P	P	A	P
3	310687	350000	0	A	A	A	P	P	A	P
4	912705	909605	947474	P	A	P	P	P	A	P
5	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
6	1068502	1030457	998128	P	A	P	P	P	A	P
7	627464	0	0	A	A	P	P	P	P	P
8	635028	337116	909443	P	P	P	P	P	A	P
9	0	0	0	A	A	P	P	P	A	P
10	488223	694846	389698	A	P	P	P	P	P	A
11	1016146	829529	1007194	P	P	P	P	P	A	P

na = não se aplica em função de perda da amostra; P = presença da célula específica; A= ausência da célula específica; N= não há informação do rato cinco por motivo de óbito.

A análise da Tabela 5 demonstra que a maioria das amostras apresentaram células de neoformação, onde foram observadas a presença de células de tecido conjuntivo, fibrobrastos, osteóide e de reparo na grande maioria das amostras observadas. Da mesma maneira, observou-se no Grupo 2, ilustrado pelas figuras 2 e 3. Enquanto o Grupo 3 não apresentou formação celular. A cavidade óssea permaneceu vazia figura 4.

Figura 2: GRUPO 2 (cimento- osteoide- tecido conjuntivo) HE aumento 100x M.O. 100µm

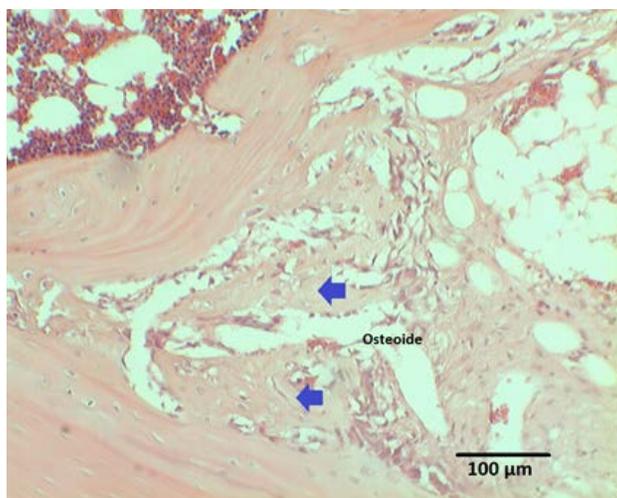


Figura 3: GRUPO 2 (nova formação óssea) HE M.O.

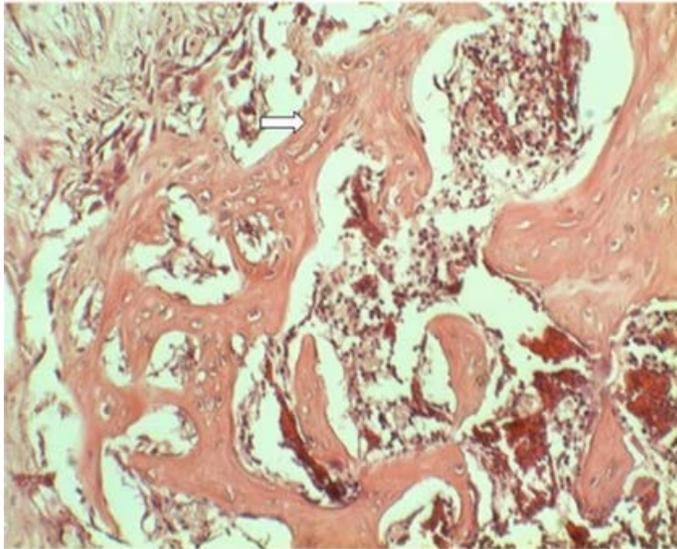
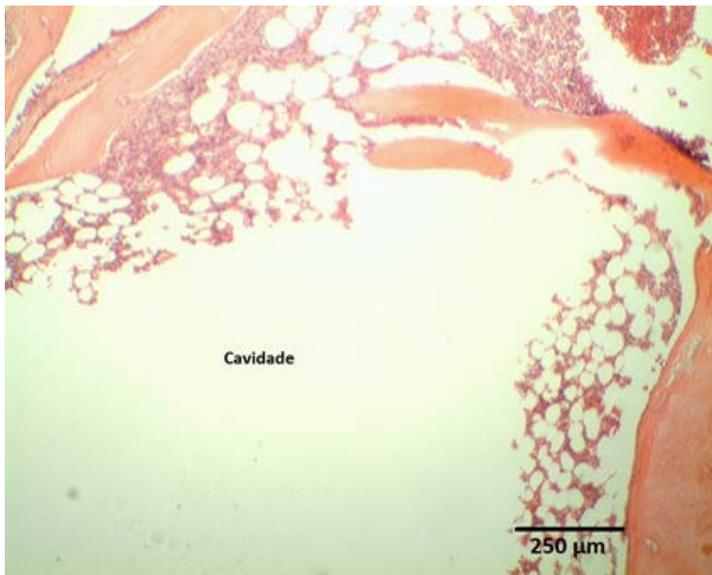


Figura 4: GRUPO 3 (cavidade) HE aumento 40 x M.O. 250 µm



As lâminas do Grupo 1, foram analisadas à parte para definição do tipo de tecido apresentado envolvendo cimento e implante. Os tecidos encontrados foram: fibras de tecido conjuntivo e tecido ósseo mineralizado,

como também cristais de cimento (Figuras 5 a 7).

Figura 5: GRUPO 1 (tecido conjuntivo e cristais de cimento) SB M.O. 100 μm

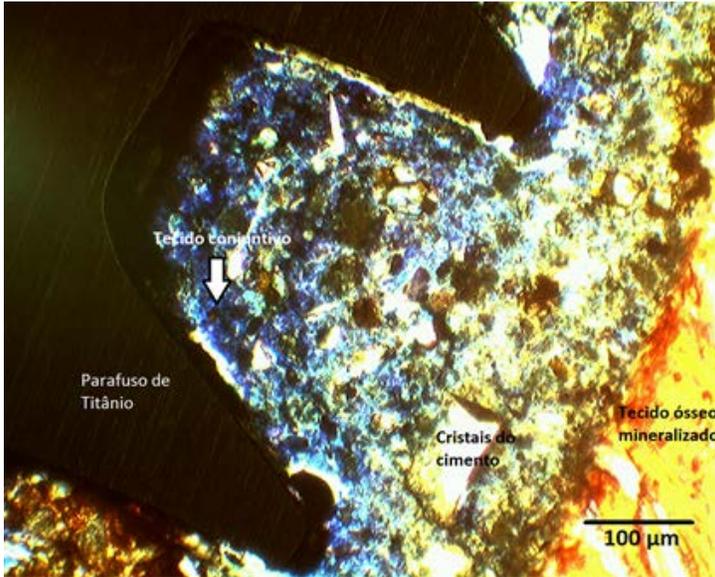


Figura 6: GRUPO 1 (formação de tecido ósseo e tecido conjuntivo de reparo na região do cimento) SB M.O. 100 μm

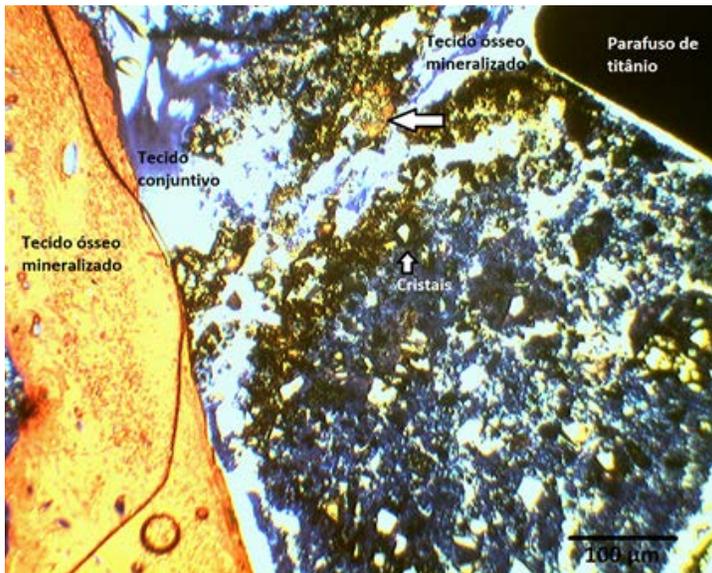
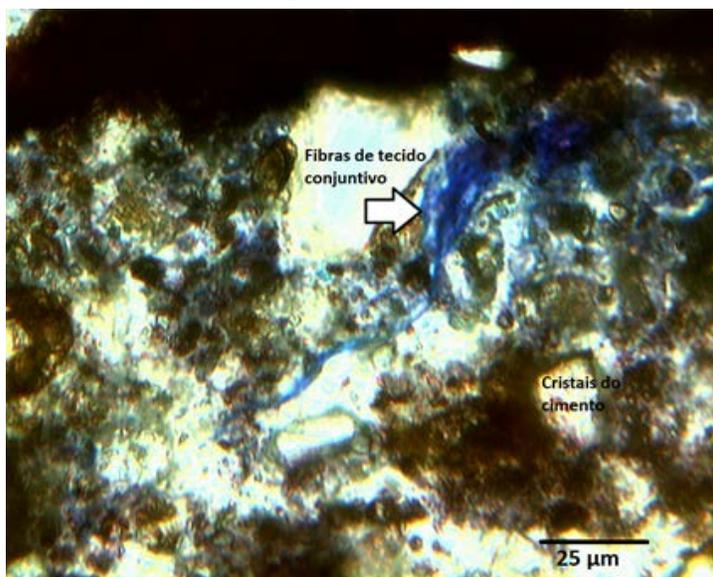


Figura 7: GRUPO 1 (tecido conjuntivo e cristais de cimento) SB M.O. 25 μ m



6. CONCLUSÃO

O cimento PBS@CIMMO induziu neoformação óssea e observou-se integração osso neoformado, cimento e parafuso de titânio.

7. IMPACTO SOCIAL

O cimento PBS@CIMMO, em uso rotineiro pelo Cirurgião-Dentista Implantodontista, favorece e reintegração do paciente desdentado, imediatamente ao seu convívio social através da confecção de dente provisório sobre os implantes instalados, fomentando melhora da autoestima e prevenindo desconforto emocional por parte do paciente. Também promove impacto social ao profissional, otimizando o procedimento, consumindo menos tempo e menor retorno em consultas para a confecção de próteses parciais removíveis provisórias, que são extremamente desconfortáveis para o paciente, além de dispendiosas, financeiramente, tanto para paciente quanto para o profissional, melhorando a qualidade técnica e conforto paciente/profissional nas reabilitações orais.

REFERÊNCIAS

AL KUDMANI, H.; AL, J.; ANDREANA, S. (2017). **Is Bone Graft or Guided Bone Regeneration Needed When Placing Immediate Dental Implants?** A Systematic Review. *Implant dentistry*. v. 26, n. 6, p. 346-354, 2017.

ARAÚJO, M.G.; SUKEKAVA, F.; WENNSTROM, J. L.; LINDHE, J. (2005). **Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog.** J Clin Periodontol, v. 32, p. 645–652, 2005.

ATIEH, M.A.; ALSABEEHA, N. H. M.; PAYNE, A. G. T.; DUNCAN, W.; FAGGION, C. M.; ESPOSITO, M. (2015). **Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development.** Cochrane Database of Systematic Reviews, v. 28, n. 5, p. 712-717, 2015

ATIEH, M. A.; SHAH, M.; ABDULKAREEM, M.; ALQAHTANI, H. A.; ALSABEEHA, N. H. M. (2021). **The socket shield technique for immediate implant placement: A systematic review and meta-analysis.** J Esthet Restor Dent. 2021.

BOCZAR, R. M. L.; SILVA, S. R.; ALVES, L. O.; ZOTARELLI FILHO, I. J.; SILVA NETO, J.D. (2018). **Single Element In Obturation With Endodontic Retreatment With PBS® CIMMO Cement In Alveolar Tooth Abscess - Case Report.** WULFENIA. v. 25, n. 2; p. 119-128, 2018.

BRITO, A. T.; ROSA, B. T.; NOGUEIRA-FILHO, G. R.; TODESCAN, S. M. C. (2009). **Avaliação histométrica em ratos do efeito da fumaça da cannabis (maconha) no reparo ósseo ao redor de implantes de titânio.** R. Periodontia, v. 19, n. 2, p.100-108, 2009.

CHRISTIAENS, V.; PITMAN, J.; GLIBERT, M.; HOMMEZ, G.; ATASHKADEH, M.; DE BRUYN, H. (2020). **Rationale for a reverse tapered body shift implant for immediate placement.** Int J Oral Maxillofac Surg, v. 49, n. 12, p.1630-1636, 2020. doi: 10.1016/j.ijom.2020.04.007. Epub 2020 May 4. PMID: 32371178.

COOK, S. D.; SALKELD, S. L.; BRINKER, M. R.; WOLFE, M. W.; RUEGER, D. C. (1998). **Use of an osteoinductive biomaterial (rhOP-1) in healing large segmental bone defects.** J Orthop Trauma. v. 12, n. 6, p. 407-412, 1998.

GIORDANO, V.; GIORDANO, M.; KNACKFUSS, I. G. (2000). **Fatores de crescimento e diferenciação ósseos.** Efeitos sobre o processo de consolidação de fratura: presente e futuro. RBM Rev. Bras. Med, v. 57, n. 9, p.1018-1029, 2000.

GUARNIERI, R.; STEFANELLI, L.; DE ANGELIS, F.; MENCIO, F.; POMPA, G.; DI CARLO, S. (2017). **Extraction Socket Preservation Using Porcine-Derived Collagen Membrane Alone or Associated with Porcine-Derived Bone.** Clinical Results of Randomized Controlled Study. Journal of Oral & Maxillofacial Research. v. 8, n. 3, e5.

IGNÁCIO, H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; CHIERICE, G. O. (2002). **Utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães*.** Rev. Bras. Ortopedia, 2002.

IOCCA, O.; FARCOMENI, A.; PARDIÑAS-LOPEZ, S.; TALIB, H. S. (2017). **Alveolar ridge preservation after tooth extraction: a Bayesian Network meta-analysis of grafting materials efficacy on prevention of bone height and width reduction.** J

Clin Periodontol, v. 44, p. 104–114, 2017.

LANE, J. M.; YASKO, A. W.; TOMIN, E.; COLE, B. J.; WALLER, S.; BROWNE, M.; TUREK, T.; GROSS, J. (1999). **Bone marrow recombinant human bone morphogenetic protein-2 in osseous repair.** Clin. Orthop. Relat, v. 361, p. 216-227, 1999.

NÓIA, C. F.; SÁ, B. C. M. (2017). **Preservação do rebordo alveolar através de membranas não reabsorvíveis.** Full Dent. Sci, v.8, n. 32, 2017. doi.10.24077/2017;832-814.

NORMANDO, D.; TJÄDERHANE, L.; QUINTÃO, C. C. A. (2010). **A escolha do teste estatístico** - um tutorial em forma de apresentação em PowerPoint. Dental Press J. Orthod, v. 106, n. 1, p. 101-106, 2010.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. (2010). **Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review - Part III: Clinical Applications, Drawbacks, and Mechanism of Action.** JOE – v. 36, n. 3, 2010.

QUINTERO, D. G.; WINGER, J. N.; KHASHABA, R.; BORKE, J. L. (2010). **Advanced Glycation Endproducts and Rat Dental Implant Osseointegration,** Journal of Oral Implantology. v. 36, n. 2, p.97-103, 2010.

ROCHA, F. A.; ELIAS, C. N. (2010). **Influência da Técnica Cirúrgica e da Forma do Implante na Estabilidade Primária.** Rev Odontol Bras Central, v. 18, n. 48, p. 26-29, 2010.

SALAMANCA, E.; PAN, Y. H.; TSAI, A. I.; LIN, P. Y.; LIN, C. K; HUANG, H. M.; CHANG, W. J. (2017). **Enhancement of Osteoblastic-Like Cell Activity by Glow Discharge Plasma Surface Modified Hydroxyapatite/ β -Tricalcium Phosphate Bone Substitute.** Materials, 20(12) 1347-1352, 2017.

SILVA, S. R.; SILVA NETO, J. D.; NOVO, N. F.; VEIGA, D. F.; SCHNAIDER, T.; FERREIRA, L. M. (2015) **Portland cement versus MTA as a root-end filling material.** A pilot study Acta Cir Bras. v. 30, n. 2, p. 160-164, 2015.

SILVA, S. R.; SILVA NETO, J. D.; SCHNAIDER, T. B.; VEIGA, D. F.; NOVO, N. F.; MESQUITA FILHO, M.; FERREIRA, L. M. (2016). **The use of a biocompatible cement in endodontic surgery. A randomized clinical trial 1.** Acta Cir. Bras, v. 31, n. 6, p. 422-427, 2016.

SILVA NETO, J. D.; BRITO, R. H.; SCHNAIDER, T. B.; GRAGNANI, A.; ENGELMAN, M.; FERREIRA, L. M. (2010). **Root perforations treatment using mineral trioxide aggregate and Portland cements.** Acta Cir Bras. v. 25, p. 479-484, 2010.

SILVA NETO, J. D.; SCHNAIDER, T. B.; GRAGNANI, A.; PAIVA, A. P.; NOVO, N. F.; FERREIRA, L. M. (2012). **Portland cement with additives in the repair of furcation perforations in dogs.** Acta Cir Bras, v. 27 p. 809-814, 2012.

SIQUEIRA, C. R.; SEMENOFF, T. A.; PALMA, V. C.; BORGES, Á. H.; SILVA, N. F.; SEGUNDO, A. S. (2015). **Effect of chronic stress on implant osseointegration into rat's mandible**. Acta Cir. Bras, v. 30, n. 9, p. 598-603, 2015.

SOARES, C. **Síntese e Caracterização de Biocimentos Nanoestruturados para Aplicações Biomédicas**. (2006). Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – PGCEM da Universidade de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

TORABINEJAD, M.; PARIROKH, M.; DUMMER, P. M. H. (2017). **Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview** – part II: other clinical applications and complications. International Endodontic Journal. Ago. 2017.

TURKYILMAZ, I. (2006). **A comparison between insertion torque and resonance frequency in the assessment of torque capacity and primary stability of Brånemark system implants**. J of Oral Rehabil, v. 33, n.10, p. 754-759, 2006.

YOUNGER, E. M.; CHAPMAN, M. W. (1989). **Morbidity at bone graft donor sites**. J. Orthop. Trauma, v. 3, n. 3, p.192-198, 1989.

ZERBINATTI, C. C.; VEIGA, D. F.; OLIVEIRA, M. A.B.; et al. (2019). **Bioceramic cement in the filling of bone defects in rats**. Acta Cir Bras. v. 34, n. 6, 2019.

PBS@CIMMO CEMENT IN FILLING BONE DEFECTS: AN EXPERIMENTAL STUDY IN RATS: PART II

ABSTRACT - Dental extraction causes bone defects, fresh sockets. Clinical conditions that require approach with installation of implants and aesthetic rehabilitation through prostheses on the implants. This rehabilitation procedure is called immediate loading and the condition for it to be performed is the primary stability of the implants. Purpose: To evaluate PBS@CIMMO cement in the filling of bone defects. Methods: Thirty-six adult male Wistar rats were organized into three groups of twelve individuals each (Group 1, Group 2 and Group 3). Approval CEUA opinion 265/17. In all groups, a femoral bone defect with a size of 2.0 mm wide and 7.0 mm deep was performed. In Group 1, the PBS@CIMMO cement was applied to the bone defect produced and a titanium implant (CONNECTION®) measuring 1.5mm thick and 6mm long was installed in the cavity. In Group 2, the PBS@CIMMO cement was applied to the well. In Group 3 only bone failure was performed. Results: Kruskal Wallis tests were performed for each area and the mean of the three groups was compared. The Dunn test was used, comparing the mean of each Group: Group 1 with Group 2, Group 1 with Group 3 and Group 2 with Group 3. In all comparisons, significance was observed for Group 2 $p = 0.0014$. Conclusion: PBS@CIMMO cement induced bone neoformation and integration of neoformed bone, cement and titanium screw was observed.

KEYWORDS: Immediate Dental Implant Loading; Dental Implantation; Endosseous; Guided Tissue Regeneration; Periodontal; Bone Substitutes; Bone Cements; Inorganic Chemicals.

PAPEL DO MICRORNA-26A NO REPARO DO TECIDO RENAL EM MODELO DE LESÃO RENAL AGUDA

Pedro Paulo Gattai Gomes

lattes.cnpq.br/2896129904389035

RESUMO - O fator de crescimento dos hepatócitos (HGF) tem papel relevante no reparo tecidual. O microRNA-26a é um modulador endógeno de HGF. O papel do miR-26a no processo de reparo renal foi avaliado em ratos Wistar submetidos a modelo de lesão renal aguda por rabiomiólise induzida por glicerol (6 mL / kg). Os animais foram avaliados 3, 12, 48, 96 e 120 horas após a injeção de glicerol. A creatinina sérica (SCr) e a expressão gênica de HGF, c-met, STAT3 e miR-26a foram estimados. Células NRK52E transfectadas com anti-miR26a e estimuladas com Fe³⁺ por 24 horas imitaram os efeitos da mioglobina *in vitro*. SCr foi maior após 48 horas, diminuindo após 96 horas, caracterizando a recuperação, normalizando após 120 horas. A expressão de HGF aumentou durante o início (3 horas), com baixa relação com miR-26a. Na recuperação, o aumento no miR-26a foi coincidente com a supressão do RNA mensageiro do HGF, sugerindo que nesta fase, o miR-26a pode ter um papel na modulação do HGF. O Fe³⁺ induziu morte celular após 3

horas e proliferação após 24 horas. Não houve correlação entre miR-26a e STAT3 durante a fase de morte; Porém, durante a fase de proliferação, um aumento no STAT3 foi paralelo a uma diminuição no miR-26a. O silenciamento de miR-26a induziu aumentos na viabilidade celular e a forma fosforilada da proteína STAT3 em células que receberam Fe³⁺. O miR-26a pode ter um papel fundamental na modulação dos níveis de HGF após seus efeitos proliferativos terem sido desencadeados.

PALAVRAS-CHAVE: microRNAs; Lesão Renal Aguda; Rabiomiólise.

1. INTRODUÇÃO

MicroRNAs (miRs) são uma classe de RNAs não codificantes, que regulam a síntese de proteínas ao interagir com RNAs mensageiro alvo (mRNAs), inibindo a tradução, processo descrito em um estudo anterior (Kasinath *et al.*, 2009). Assim, essas entidades moleculares têm um papel pós-transcricional crucial, regulando muitas funções fisiológicas celulares, como proliferação, diferenciação, metabolismo, apoptose etc. Portanto, um desequilíbrio na síntese de miR pode causar um estado pa-

tológico. Durante o início da lesão renal aguda (LRA), por exemplo, alguns miRs parecem atuar patogenicamente promovendo inflamação, apoptose e fibrose, enquanto outros podem atuar de forma protetora exercendo ação anti-inflamatória, anti-apoptótica, proliferativa e pró-angiogênica efeitos, promovendo um aumento na taxa de recuperação demonstrada em relatórios anteriores (Li et al., 2015; Tiwari, Mukherjee, Dixit, 2017; Zhu et al., 2017; Jiang et al., 2017).

Em muitas formas de LRA, o túbulo proximal é o principal segmento do néfron afetado segundo alguns autores (Yu et al., 2011), que, por sua vez, apresenta grande potencial de regeneração após lesão. Após a lesão, as células quiescentes não afetadas entram em desdiferenciação e são novamente capazes de proliferar. As novas células então se diferenciam para restaurar a integridade funcional do néfron, o que foi mostrado em um estudo anterior (Imgrund et al., 1999). Fatores de crescimento desempenham um papel fundamental nesse processo, estimulando as células a entrar no ciclo celular. O fator de crescimento de hepatócitos (HGF) é de particular importância para a proliferação de células epiteliais tubulares (Khodo et al., 2016). O HGF induz mitose em células tubulares (Cantley et al., 1994; Liu, Nickel, Cantley, 2001) ao interagir com o receptor tirosina quinase c-Met (Vargas, Hoeflich, Jehle, 2000). Uma vez que o HGF se liga a c-Met, uma ampla gama de diferentes vias de sinalização celular é ativada, incluindo o transdutor de sinal e o ativador da transcrição 3 (STAT3), sendo que a sua fosforilação e translocação para o núcleo, promove a proliferação celular (Faria, Smith, Rutka, 2011). A ativação de STAT3 por c-Met demonstrou ser importante na tubulogênese (Organ, Tsao, 2011).

Foi demonstrado que ambos HGF e STAT3 são alvos de miR-26a (Yang et al., 2013; Yang et al., 2014). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar uma possível correlação entre a expressão de miR-26a e a sinalização de HGF / STAT3 no reparo renal em um modelo de rabiomiólise induzida de LRA pela aplicação intramuscular de glicerol.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho experimental

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de São Paulo (CEUA n° 533959), e os experimentos foram realizados de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Ratos Wistar machos adultos que receberam água da torneira e ração padrão *ad libitum* foram mantidos em gaiolas coletivas em ambiente com temperatura controlada e ciclo de luz-escuro de 12 horas. Após um período de aclimação de 1 semana, os ratos foram submetidos a um modelo de rabiomiólise induzida por glicerol de LRA. Resumidamente, os animais foram desidratados por 18 horas antes da administração de glicerol,

conforme descrito anteriormente (Gattai *et al.*, 2014). Em seguida, após uma breve anestesia com uma solução de cetamina - xilazina (10 mL / kg, ip), os animais receberam uma injeção intramuscular de solução de glicerol (50% v / v, 6 mL / kg), com metade da dose em cada músculo gastrocnêmio. Após a aplicação do glicerol, os animais foram alocados em gaiolas individuais em ambiente aquecido até a recuperação anestésica. Em seguida, os animais retornaram às suas respectivas gaiolas coletivas com água e ração *ad libitum*. Os animais foram divididos em 6 grupos: controle e LRA avaliados 3, 12, 48, 96 e 120 horas após a administração do glicerol. Os animais do grupo controle não receberam tratamento.

Após o respectivo período de cada grupo, os animais foram pesados e colocados em gaiolas metabólicas para coleta de urina de 24 horas. Em seguida, foram anestesiados com solução de cetamina - xilazina (10 mL / kg, ip) para coleta de sangue por punção intracardíaca. Os animais foram sacrificados por exsanguinação e perfuração do diafragma. Imediatamente após a eutanásia, os rins foram colhidos. O rim direito foi armazenado em tubo falcon de 10 mL contendo solução de formaldeído tamponado a 10% por 24 horas e, em seguida, a solução foi alterada para álcool 70% até posterior análise histológica; o rim esquerdo foi imediatamente transferido para um frasco contendo nitrogênio líquido e então armazenado a -80°C até ser usado para estimar a expressão gênica de miR e mRNA.

Cultura celular (modelo *in vitro*)

Considerando que o Fe^{2+} constitui a molécula de mioglobina que causam as lesões, os efeitos do Fe^{3+} (forma mais estável) foram avaliados *in vitro* em uma linhagem celular do túbulo proximal NRK52E (ATCC, EUA). Para determinar as doses de Fe^{3+} , uma curva de dose-resposta foi construída. As células NRK52E foram cultivadas em placas de cultura de células contendo 7 mL de meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) com baixa glicose e 5% de soro fetal bovino (FBS) a 37°C em 5% de CO_2 . Após atingir a confluência, as células foram mantidas em meio de cultura com 1% de FBS por 24 horas para manter as células em um estado quiescente, e então, o meio foi trocado para um meio contendo 1% de FBS e diferentes concentrações de Fe^{3+} sacarato (0,1562 mg / mL; 0,3125 ou 0,6250 mg / mL); a morte celular foi medida para construir uma curva de dose-resposta. A morte celular foi estimada pelo método colorimétrico de MTT [brometo de 3-(4,5 - dimetiltiazol - 2 - il) -2,5 - difeniltetrazólio]. A redução do MTT ao formazan é proporcional à atividade da mitocôndria e à viabilidade celular. As células foram semeadas (1×10^4 células por poço) em placas de cultura de 96 poços (Sarstedt, Alemanha) contendo 200 μL de meio de cultura. Depois que as células atingiram 80% de confluência, foram lavadas com tampão fosfato salino e 100 μL de DMEM contendo a respectiva concentração de Fe^{3+} (0,1562, 0,3125 e 0,625 mg / mL). As células foram expostas a Fe^{3+} por 3 ou 24 horas. Após esses períodos, o meio foi aspirado e 100 μL de meio mais

10 μL de solução de MTT foram adicionados a cada poço. Após 4 horas de incubação com MTT, as células foram lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS) e 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados para dissolver os cristais de formazan. Após 10 minutos, a cor formada pelo formazan foi lida em espectrofotômetro Eon (Biotek Instruments Inc., EUA) no comprimento de onda de 490 nm. Todas as doses de Fe^{3+} induziram taxas de morte celular semelhantes; entretanto, após 24 horas, a menor dose de 0,1562 mg / mL induziu o maior grau de proliferação e, portanto, essa dose foi escolhida para os próximos experimentos.

Os demais métodos realizados nos experimentos aqui apresentados foram descritos mais detalhadamente em Gattai *et al.* (2018).

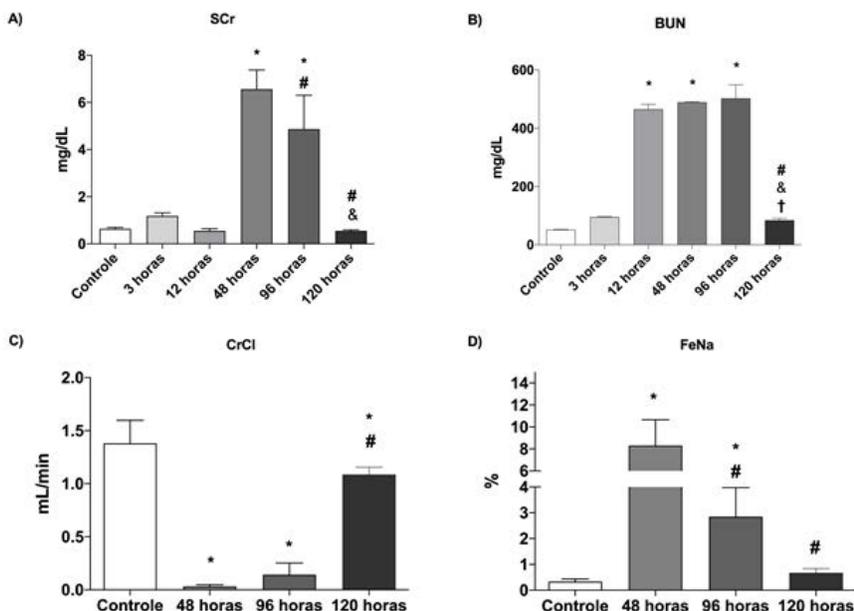
3. RESULTADOS

Função renal e achados histológicos

A SCr aumentou significativamente 48 horas após a injeção de glicerol e permaneceu elevada após 96 horas, com recuperação em 120 horas (Figura 1A). Os níveis de nitrogênio da uréia no sangue aumentaram mais cedo do que a SCr (Figura 1B) após 12 horas, com recuperação após 120 horas. A depuração da creatinina foi significativamente reduzida após 48 horas e 96 horas, seguida pela recuperação em 120 horas (Figura 1C). A excreção fracionada de Na^+ também aumentou após 48 e 96 horas e normalizou após 120 horas (Figura 1D).

A Figura 2 mostra a análise histológica do rim. Congestão intratubular foi observada 3 horas após a injeção de glicerol. Grave dano tecidual foi observado após 12 e 48 horas. Houve melhora do parênquima renal após 96 e 120 horas (Figura 2).

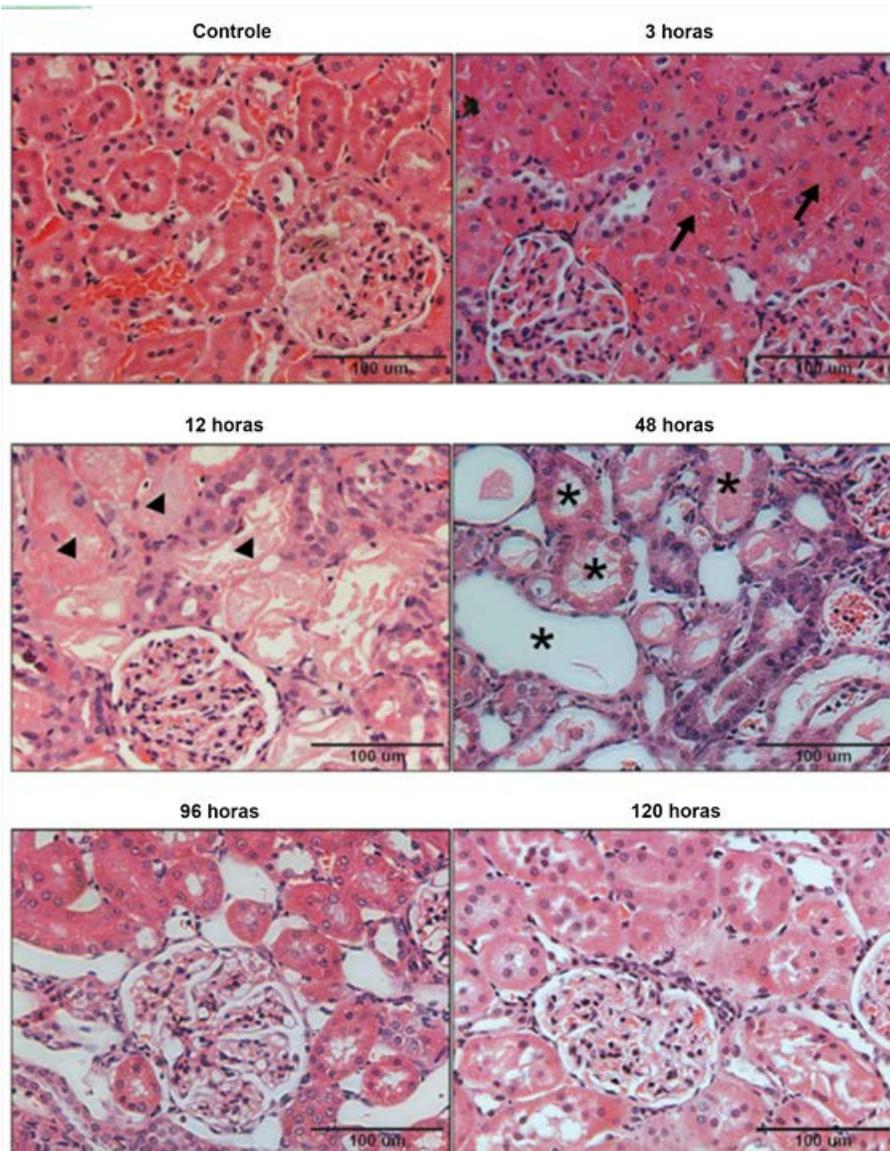
Figura 1: Função renal. Os parâmetros foram avaliados em diferentes períodos após a injeção de glicerol de 3 a 120 horas. Os resultados mostram 2 fases diferentes: a fase de início (48 horas) e a fase de reparo (120 horas). (A) creatinina sérica (SCr); (B) nitrogênio da ureia no sangue (BUN); (C) depuração de creatinina (CrCl); e (D) excreção fracionada de sódio (FENa). P <0,05: * versus controle, † versus 12 horas, #versus 48 horas e & versus 96 horas. N = 5



Papel do HGF na recuperação da LRA

A expressão do gene HGF no rim aumentou no início das primeiras horas (3 e 12 horas) durante o início da LRA e, curiosamente, a expressão do HGF foi completamente suprimida durante a fase de recuperação (Figura 3A). Os níveis de mRNA do receptor de HGF, c-Met, apresentaram o mesmo perfil observado para HGF (Figura 3B). A análise de miR-26a mostrou que o perfil de expressão não era coincidente com os níveis de mRNA de HGF (Figura 3C), ou seja, níveis baixos de miR-26a coincidiram com níveis normais de HGF em comparação com o controle; no entanto, um aumento na expressão de miR-26a foi paralelo a uma regulação negativa de HGF ao iniciar a fase de recuperação (96 horas). Apoiando este resultado, o gene STAT3 a expressão mostrou um aumento em 3 horas e uma diminuição de 12 para 120 horas, mas é significativo apenas em 12, 48 e 120 horas (Figura 3D).

Figura 2: Alterações histológicas. Lâminas histológicas do controle e 3, 12, 48, 96 e 120 horas após a injeção de glicerol.



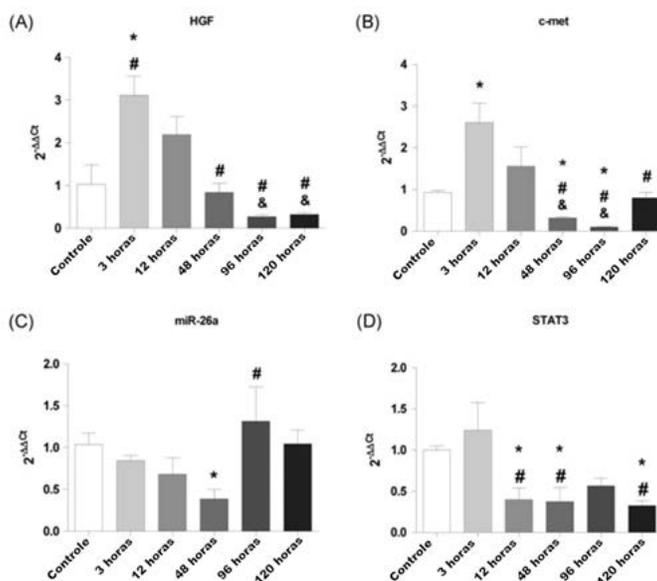
De acordo com a Figura 2, em 3 horas, restos de células podem ser observados dentro dos túbulos (setas); às 12 horas, o dano é mais evidente (pontas de flechas), com severa destruição do parênquima renal observada (asteriscos) às 48 horas; às 96 horas, a melhora do parênquima tecidual

coincidiu com a fase inicial de recuperação da função renal (Figura 1); e às 120 horas, uma normalização das características histológicas dos rins.

Modelo *in vitro* de dano induzido pela exposição ao Fe³⁺

As células NRK-52E foram expostas a doses crescentes de Fe³⁺. Todas as doses induziram razões de morte celular semelhante após 3 horas de exposição (Figura 4A); no entanto, a capacidade de proliferar durante a fase de recuperação (24 horas) foi prejudicada com doses mais altas de Fe³⁺ (Figura 4A). A molécula de sinalização a jusante do HGF, STAT3, não foi alterada após 3 horas; no entanto, foi regulado positivamente após 24 horas de exposição ao Fe³⁺ (Figura 4B). A regulação positiva de STAT3 coincidiu com uma regulação negativa significativa da expressão do gene miR-26a após 24 horas (Figura 4C).

Figura 3: Expressão do gene renal de HGF, c-met e miR-26a. O perfil de expressão do gene HGF (A) foi semelhante à expressão de seu receptor c-Met (B). Ambos foram regulados positivamente durante a fase de início da LRA com normalização durante a fase de recuperação. A expressão de miR-26a (C) não foi relacionada à suprarregulação dos níveis de mRNA de HGF durante a fase de início, mas foi durante a fase de recuperação. (D) Em relação à expressão do gene STAT3, houve diferença apenas após 96 horas em relação aos grupos controle e 3 horas. P <0,05; * versus controle, #versus 3 horas e & versus 48 horas. N = 5. LRA, lesão renal aguda; HGF, fator de crescimento de hepatócitos; miR-26a, microRNA-26a; mRNA, RNA mensageiro; STAT3, transdutor de sinal e ativador da transcrição 3.



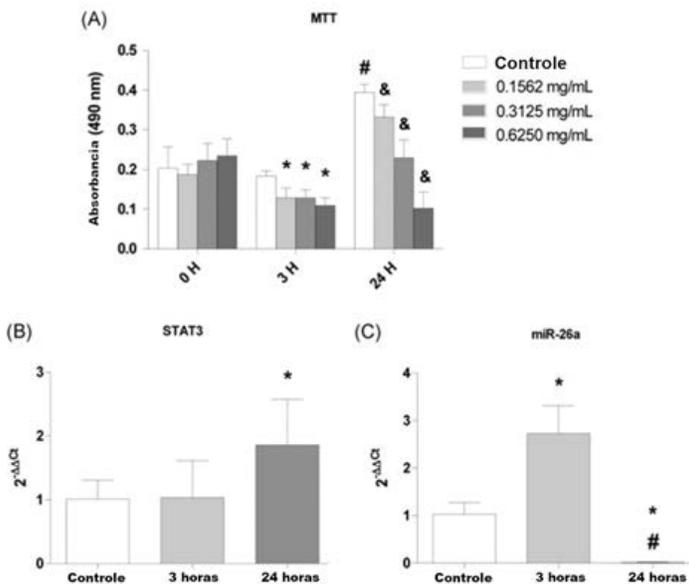
Efeito do silenciamento de miR-26a em células NRK52E estimuladas com Fe³⁺

Para verificar a relação entre STAT3 e miR-26a observada em células NRK52E expostas a Fe³⁺, miR-26a foi silenciado por anti-miR-26a. A pré-incubação de células com anti-miR26a causou uma redução significativa na expressão de miR-26a, indicando silenciamento eficiente (Figura 5A). Como esperado, o anti-miR causou um aumento na expressão de STAT3; no entanto, não houve diferença entre as células de controle e as células expostas ao Fe³⁺ (Figura 5B). A exposição ao Fe³⁺ durante 3 horas induziu uma diminuição significativa no p-STAT3. A expressão da proteína p-STAT3 foi restaurada por anti-miR-26a (Figura 5C).

A morte celular induzida por Fe³⁺ após 3 horas de exposição foi minimizada na presença do anti-miR (Figura 6). O anti-miR não interferiu na proliferação celular observada após 24 horas.

Figura 4: Resposta celular à exposição ao Fe³⁺. (A) Curvas de resposta à dose e resposta ao tempo de viabilidade celular estimada pelo ensaio MTT em células do túbulo proximal expostas a Fe³⁺. Semelhante ao que foi observado *in vivo*, também foi possível distinguir 2 fases: uma fase de morte celular induzida pela exposição ao Fe³⁺ durante 3 horas e uma fase de proliferação celular observada após 24 horas da adição de Fe³⁺. A dose mais alta de Fe³⁺, no entanto, não permitiu que as células proliferassem, portanto, a dose mais baixa de 0,1562 mg / mL que permitiu a recuperação das células foi usada nos próximos experimentos para estimar a expressão de mRNA de STAT3 (B) e miR-26a (C). STAT3, um alvo miR-26a e uma molécula de sinalização de HGF foram escolhidos, uma vez que os túbulos proximais não expressam o gene HGF. Semelhante ao que foi encontrado *in vivo*, a correlação entre STAT3 e miR-26a foi observada apenas durante a fase de proliferação. P <0,05: * versus controle; e #versus 3 horas.

N = 5. Fator de crescimento de hepatócitos HGF; miR-26a, microRNA-26a; mRNA, RNA mensageiro; MTT, [brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]; STAT3, transdutor de sinal e ativador da transcrição 3.



4. DISCUSSÃO

Um modelo experimental de LRA por rbdomiólise induzida por glicerol foi estabelecido e, semelhante aos resultados descritos na literatura, a mortalidade foi de aproximadamente 32% (dados não mostrados). Com base nos parâmetros da função renal, foram caracterizadas as 2 fases dessa forma reversível de LRA (Korrapati, Shaner, Schnellmann, 2012): a fase de início (até 48 horas) e a fase de recuperação (após 48 horas). O aumento do

nitrogênio ureico no sangue ocorreu mais cedo em comparação com a SCr, provavelmente devido ao dano muscular esquelético induzido pelo glicerol, que caracteriza o modelo de rabdomiólise (Wolfert, Oken, 1989).

Figura 5: Efeito do anti-miR-26a nas células expostas ao Fe³⁺. (A) Anti-miR foi eficiente para suprimir significativamente a expressão de miR-26a; (B) a supressão do miR-26a resultou na suprarregulação de STAT3 em ambos os grupos de células expostas e não expostas ao Fe³⁺; P <0,05: * versus controle 3H; #versus anti-miR + Fe. N = 5. (C) O tratamento de células com Fe³⁺ induziu uma diminuição na expressão da proteína p-STAT3, que foi revertida na presença de anti-miR-26a. P <0,05: * versus controle 3H; e #versus anti-miR + Fe. N = 4. miR-26a, microRNA-26a; p-STAT, forma fosforilada do transdutor de sinal e ativador da transcrição 3.

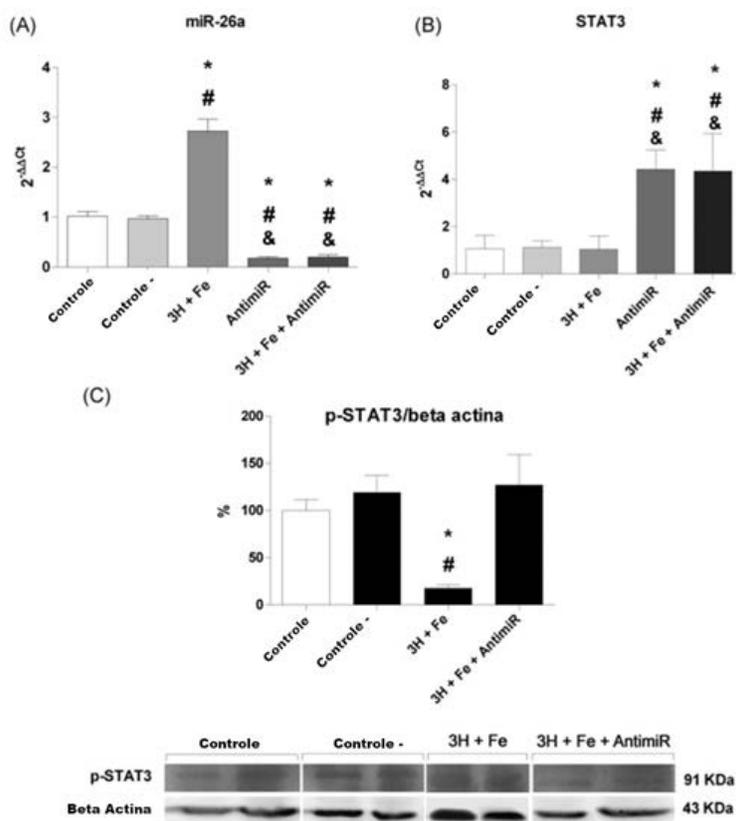
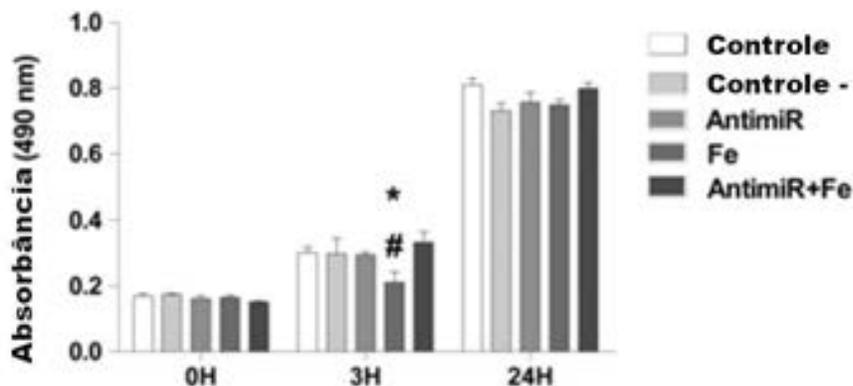


Figura 6: Viabilidade celular de células expostas a anti-miR-26a e Fe³⁺. O anti-miR induziu uma melhora na viabilidade celular quando desafiado com Fe³⁺ durante 3 horas. P <0,05: * versus controle; e #versus anti-miR + Fe. N = 8. miR-26a, microRNA-26a.



O objetivo principal deste estudo foi avaliar a regulação do HGF e sua molécula de sinalização à jusante, STAT3, ambos direcionados pelo miR-26a, e seu possível papel na recuperação da LRA induzida pelo glicerol. Curiosamente, a regulação positiva do HGF ocorreu muito cedo durante o início da lesão (3 horas), mesmo antes de qualquer modificação detectável nos parâmetros da função renal. O aumento precoce da expressão renal de HGF foi coincidente com a elevação dos níveis plasmáticos de HGF, conforme demonstrado anteriormente por Homsy e cols. (2009) e conforme observado no presente estudo, com a suprarregulação do receptor de HGF c-Met, que é altamente expresso nas células tubulares proximais (Zhou *et al.*, 2013). Foi proposto que as células do túbulo proximal são os principais efetores da reversibilidade da LRA, e o HGF tem um papel central nesse processo (Nagano *et al.*, 2002). O dano e a morte das células tubulares proximais são típicos desse modelo de LRA, e observou-se aqui que o pico de perda de sódio, caracterizando o dano tubular, ocorreu 48 horas após a injeção de glicerol. Assim, a elevação precoce dos níveis de HGF pode ser interpretada como uma estratégia que propicia a oportunidade de células proximais viáveis responderem ao estímulo de proliferação induzido pelo HGF antes da morte celular. Na verdade, após a estimulação proliferativa inicial, a expressão de ambos HGF e c-Met diminuiu para níveis de controle, e essa normalização ocorreu em paralelo com a elevação da SCr (48 horas). Nagano e cols. (2004) mostraram que a administração de HGF antes da injeção de glicerol acelerou a recuperação da função renal quando comparada à administração de HGF após glicerol. Assim, o melhor conhecimento dos mecanismos endógenos de regulação da expressão do gene do HGF pode contribuir para estimular sua

ação proliferativa e acelerar o processo de recuperação.

HGF e STAT3 são alvos de miR-26a que reduzem sua tradução (Yang *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2014). No entanto, descobrimos que a elevação do mRNA de HGF durante a fase de início de LRA não era dependente de miR-26a, mas sim que o aumento na expressão de miR-26a observada após 96 horas pode ser importante para inibir a tradução de HGF durante a fase de recuperação, quando a presença de HGF não é mais necessária. A expressão do gene STAT3 mostrou um perfil semelhante. Assim, esses achados sugerem que miR-26a pode atuar como um controle de feedback negativo na superexpressão de HGF. Para melhor avaliar a correlação entre o mRNA do HGF e o miR-26a, estabelecemos e caracterizamos um modelo *in vitro* de dano celular induzido por Fe^{3+} , uma vez que a molécula de ferro contida na mioglobina é responsável por seu efeito tóxico (Khan, 2009). Uma dose relativamente baixa de Fe^{3+} induziu morte celular significativa após um período de incubação de 3 horas, caracterizando uma fase de dano neste modelo *in vitro* (Zager, Johnson, Hanson, 2004). Apesar da morte celular significativa, as células remanescentes expostas à dose mais baixa foram capazes de proliferar e, após 24 horas, atingiram uma taxa de crescimento semelhante para o grupo de controle. Em contraste, doses mais altas de Fe^{3+} prejudicaram a capacidade das células remanescentes de proliferar. Com base nesses resultados, sugerimos 2 fases neste modelo de dano celular induzido por ferro: uma fase de lesão (3 horas) e uma fase proliferativa de recuperação (24 horas). Considerando que o HGF não é expresso nas células tubulares proximais renais (Ren *et al.*, 2010), avaliamos a expressão de seu receptor, c-Met, e STAT3, uma molécula a jusante da ação do HGF. Houve um aumento na expressão do gene c-Met em 3 horas (fase de dano), sugerindo que as células, apesar do dano, podem estar propensas a responder ao HGF. Como esperado, a expressão do gene STAT3 não mudou após 3 horas de exposição ao Fe^{3+} porque não tratamos as células com HGF. No entanto, após 24 horas (fase proliferativa), houve um aumento no mRNA de STAT3 mesmo na ausência de HGF, sugerindo que STAT3 pode ser ativado independentemente do HGF. No entanto, miR-26a foi significativamente suprimido em 24 horas, e considerando que miR-26a tem como alvo STAT3, podemos especular que a supressão de miR-26a poderia ter um papel na elevação do mRNA de STAT3 durante esta fase proliferativa. Na verdade, o silenciamento de miR-26a resultou em um aumento no mRNA de STAT3, corroborando nossa hipótese de que os níveis de STAT3 podem ser regulados por miR-26a independentemente do HGF. Além disso, a elevação em miR-26a após 3 horas de incubação de Fe^{3+} foi coincidente com uma redução nos níveis de p-STAT3, que foi restaurado por silenciamento de miR-26a.

Esse papel do miR-26a na proliferação celular por meio da regulação de STAT3 independente de HGF já foi sugerido em células de linfoma (Farina *et al.*, 2017) e carcinoma de hepatócitos (Yang *et al.*, 2013), e aqui, demonstramos que esse mecanismo também pode estar operando em

células não carcinogênicas.

Com base nesses resultados *in vitro*, podemos traçar um paralelo com os dados *in vivo* e, quando considerados em conjunto, pode-se sugerir que durante a fase de dano celular / início de LRA, a regulação da expressão de HGF não está ligada a miR-26a, mas durante a fase proliferativa / de recuperação, miR-26a pode constituir um importante controle de feedback negativo responsável por retornar o HGF aos níveis de controle, visando o mRNA de STAT3 de uma maneira independente de HGF. Esses resultados contribuem para entender melhor o mecanismo de controle da expressão de HGF, e o uso de um inibidor de miR-26a, como um anti-miR, pode prolongar os efeitos proliferativos de HGF e STAT3, melhorando a capacidade e a taxa de recuperação da função renal.

Os resultados sugerem que a regulação positiva de HGF e STAT3 em LRA induzida por rabdomiólise não é dependente de miR-26a, mas sim que miR-26a pode ter um papel como um controle de feedback negativo da tradução de HGF durante a fase de recuperação / proliferativa.

REFERÊNCIAS

Cantley LG, Barros EJG, Gandhi M, Rauchman M, Nigam SK. Regulation of mitogenesis, motogenesis, and tubulogenesis by hepatocyte growth-factor in renal collecting duct cells. *Am J Physiol.* 1994;267:F271-F280.

Faria C, Smith C, Rutka J. The role of HGF/c-MET pathway signaling in human medulloblastoma. In: Garami M, ed. *Molecular Targets of CNS Tumors*. London, UK: InTech Publications; 2011.

Farina FM, Inguscio A, Kunderfranco P, Cortesi A, Elia L, Quintavalle M. MicroRNA-26a/cyclin-dependent kinase 5 axis controls proliferation, apoptosis, and *in vivo* tumor growth of diffuse large B-cell lymphoma cell lines. *Cell Death Dis.* 2017;8: e2890.

Gattai PP, Mafra FFP, Wasinski F, *et al.* Kinin B2 receptor does not exert renoprotective effects on mice with glycerol-induced rhabdomyolysis. *World J Nephrol.* 2014;3:85-91.

Gattai PP, Maquigussa E, da Silva Novaes A, *et al.* miR-26a modulates HGF and STAT3 effects on the kidney repair process in a glycerol-induced AKI model in rats. *J Cell Biochem.* 2018;1-10.

Homsí E, Janino P, Amano M, Saraiva Camara NO. Endogenous hepatocyte growth factor attenuates inflammatory response in glycerol-induced acute kidney injury. *Am J Nephrol.* 2009;29:283-291.

Imgrund M, Gröne E, Gröne HJ, *et al.* Re-expression of the developmental gene Pax-2 during experimental acute tubular necrosis in mice. *Kidney Int.* 1999;56:1423-1431.

Jiang XP, Ai WB, Wan LY, Zhang YQ, Wu JF. The roles of microRNA families in hepatic

fibrosis. *Cell Biosci.* 2017;7:34.

Kasinath BS, Feliers D, Sataranatarajan K, Ghosh choudhury G, Lee MJ, Mariappan MM. Regulation of mRNA translation in renal physiology and disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;297:F1153-F1165.

Khan FY. Rhabdomyolysis: a review of the literature. *Neth J Med.* 2009;67:272-283.

Khodo SN, Neelisetty S, Woodbury L, *et al.* Deleting the TGF- β receptor in proximal tubules impairs HGF signaling. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2016;310:F499-F510.

Korrapati MC, Shaner BE, Schnellmann RG. Recovery from glycerol-induced acute kidney injury is accelerated by suramin. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;341:126-136.

Li D, Wang A, Liu X, *et al.* MicroRNA-132 enhances transition from inflammation to proliferation during wound healing. *J Clin Invest.* 2015;125:3008-3026.

Liu ZX, Nickel CH, Cantley LG. HGF promotes adhesion of ATP-depleted renal tubular epithelial cells in a MAPK-dependent manner. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001;281:F-62-F-70.

Nagano T, Mori-Kudo I, Tsuchida A, Kawamura T, Taiji M, Noguchi H. Ameliorative effect of hepatocyte growth factor on glycerol-induced acute renal failure with acute tubular necrosis. *Nephron.* 2002;91:730-738.

Nagano T, Mori-kudo I, Kawamura T, Taiji M, Noguchi H. Pre- or post-treatment with hepatocyte growth factor prevents glycerol-induced acute renal failure. *Ren Fail.* 2004;26:5-11.

Organ SL, Tsao MS. An overview of c-met signaling pathway. *Ther Adv Med Oncol.* 2011;3:S7-S19.

Ren ST, Yu LH, Zhang J, Han SP, Xu CF. Developing a system for regulating expression of human hepatocyte growth factor using tetracycline in NRK52E cells. *Urol Int.* 2010;85:228-236.

Tiwari A, Mukherjee B, Dixit M. MicroRNA key to angiogenesis regulation: miRNA biology and therapy. *Curr Cancer Drug Targets.* 2017;18:266-277.

Vargas GA, Hoeflich A, Jehle PM. Hepatocyte growth factor in renal failure: promise and reality. *Kidney Int.* 2000;57: 1426-1436.

Yang X, Liang L, Zhang XF, *et al.* MicroRNA-26a suppresses tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma required for renoprotection after acute kidney injury. *Kidney Int.* 2013;84:509-520.

Yang X, Zhang XF, Lu X, *et al.* MicroRNA-26a suppresses angiogenesis in human hepatocellular carcinoma by targeting hepatocyte growth factor c-Met pathway. *Hepatology.* 2014;59:1874-1885.

Yu L, Burdmann EA, Seguro AC, Helou CMB, Zatz R. Insuficiência (Injúria) renal aguda. In: Zatz R, ed. Bases Fisiológicas da Nefrologia. São Paulo, Brazil: Atheneu; 2011.

Wolfert AI, Oken DE. Glomerular hemodynamics in established glycerol-induced acute renal failure in the rat. *J Clin Invest.* 1989;84:1967-1973.

Zager RA, Johnson ACM, Hanson SY. Parenteral iron nephrotoxicity: potential mechanisms and consequences. *Kid- ney Int.* 2004;66:144-156.

Zhou D, Tan RJ, Lin L, Zhou L, Liu Y. Activation of hepatocyte growth factor receptor, c-met, in renal tubules is required for renoprotection after acute kidney injury. *Kidney Int.* 2013;84:509-520.

Zhu J, Yao K, Guo J, *et al.* miR-181a and miR-150 regulate dendritic cell immune inflammatory responses and cardiomyocyte apoptosis via targeting JAK1-STAT1/c-Fos pathway. *J Cell Mol Med.* 2017;21:2884-2895.

ROLE OF MICRORNA-26A IN KIDNEY TISSUE REPAIR IN ACUTE KIDNEY INJURY MODEL

ABSTRACT - The hepatocyte growth factor (HGF) plays an important role in tissue repair. The microRNA-26a is an endogenous modulator of HGF. The role of miR-26a in the renal repair process was evaluated in Wistar rats submitted to an acute kidney injury model by glycerol-induced rhabdomyolysis (6 mL/kg). The animals were evaluated 3, 12, 48, 96, and 120 hours after glycerol injection. Serum creatinine (SCr) and gene expression of HGF, c-met, STAT3, and miR-26a were estimated. NRK52E cells transfected with anti-miR26a and stimulated with Fe³⁺ for 24 hours mimicked the effects of myoglobin *in vitro*. SCr was higher after 48 hours, decreasing after 96 hours, characterizing the recovery phase, normalizing after 120 hours. HGF expression increased during the onset phase (3 hours), with a low relationship to miR-26a. Upon recovery, the increase in miR-26a coincided with the suppression of HGF messenger RNA, suggesting that at this stage, miR-26a may have a role in HGF modulation. Fe³⁺ induced cell death after 3 hours and proliferation after 24 hours. There was no correlation between miR-26a and STAT3 during the death phase; However, during the proliferation phase, an increase in STAT3 paralleled a decrease in miR-26a. MiR-26a silencing induced increases in cell viability and the phosphorylated form of the STAT3 protein in cells that received Fe³⁺. miR-26a may play a key role in modulating HGF levels after its proliferative effects have been triggered.

KEYWORDS: microRNAs; Acute Kidney Injury; Rhabdomyolysis.

EFEITO CARDIOPROTETOR DO COMPLEXO DE INCLUSÃO CARVACROL/ β -CICLODEXTRINA NA LESÃO DE REPERFUSÃO CARDÍACA

Francielle Feitosa Dias Santos

lattes.cnpq.br/3076363550817677

Universidade Federal de Sergipe,
São Cristóvão, Sergipe

Sandra Lauton Santos

lattes.cnpq.br/8772499507689911

Universidade Federal de Sergipe,
São Cristóvão, Sergipe

Enilton Aparecido Camargo

lattes.cnpq.br/2099198497076542

Universidade Federal de Sergipe,
São Cristóvão, Sergipe

Paula Dos Passos Menezes

lattes.cnpq.br/9508701751298431

Universidade Federal de Sergipe,
São Cristóvão, Sergipe

Adriano Antunes De Souza Araújo

lattes.cnpq.br/6234025640524218

Universidade Federal de Sergipe,
São Cristóvão, Sergipe

RESUMO - O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial cardioprotetor do complexo de inclusão carvacrol/ β -ciclodextrina (CAR/ β -CD) na

prevenção dos danos provocados por lesões de reperfusão na função cardíaca. Para tal, ratos Wistar (250-300 g) foram divididos em 3 grupos e pré-tratados durante 7 dias com CAR/ β -CD, CAR, solução salina (25 mg/Kg/dia, via oral) e então submetidos à isquemia e reperfusão cardíaca *ex vivo*. A aferição da pressão ventricular sistólica e diastólica foi realizada em sistema Langendorff. Calculou-se a região do infarto e o índice de severidade de arritmias. Avaliou-se as atividades enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx). Na análise estatística foram aplicados ANOVA de uma via, seguido do teste de Tukey. Animais pré-tratados com 25 mg/Kg de CAR/ β -CD obtiveram melhor desempenho contrátil após a isquemia no percentual da pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo quando comparado aos pré-tratados com CAR 25 mg/Kg (69,6 \pm 1.8 vs 34,1 \pm 4.7%). Redução da região do infarto no grupo CAR/ β -CD 25 quando comparado a CAR 25 e salina, indicando o efeito cardioprotetor do CAR/ β -CD (11,1 \pm 4,2; 27,8 \pm 4,5; 43,4 \pm 11,6%). Em coração, a SOD e CAT mostraram-se reduzidas no grupo CAR/ β -CD 25. A GPx em coração apresentou-se elevada no

grupo CAR/ β -CD 25 comparada a CAR 25. Estes resultados indicam que o complexo de inclusão CAR/ β -CD 25 mg/Kg promoveu cardioproteção na lesão de reperfusão cardíaca em ratos por redução de danos oxidativos aos lipídeos, preservação do tecido cardíaco por uma provável diminuição das espécies reativas de oxigênio.

PALAVRAS-CHAVE: Infarto do miocárdio; Carvacrol; Estresse oxidativo; β -ciclodextrina.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, em seu último relatório global sobre doenças não transmissíveis, as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo, e, nos últimos anos, foi reduzida drasticamente nos países desenvolvidos. Porém, ainda precisa ser reduzida nos países de baixa e média rendas, tornando-se meta mundial (WHO, 2014).

No último ano, as internações no Sistema Único de Saúde (SUS), por doenças cardiovasculares, compreenderam cerca de 516.163, cujo valor gasto com esses pacientes foi de R\$ 1.593.806.957,52 e o número de óbitos atingiu 41.357 indivíduos, representando um alto custo e um grande problema de saúde pública (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Dados epidemiológicos mostram que as doenças cardiovasculares constituem a principal causa de morbidade, incapacidade e morte no Brasil e no mundo. Devido à alta prevalência da Síndrome Coronariana Aguda (SCA) e sua importância como causa de morbi-mortalidade no Brasil, o Ministério da Saúde criou a *Linha de Cuidado do Infarto Agudo do Miocárdio e o Protocolo de Síndromes Coronarianas Agudas* através da Portaria nº 2.994/2011 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Segundo a Bocchi *et al.* (2009), o tratamento das doenças cardiovasculares é realizado através de fármacos, atividades físicas, controle nutricional e cirúrgico. A cirurgia de revascularização do miocárdio tem demonstrado ser um procedimento seguro e bem estabelecido para o tratamento da insuficiência coronariana, incluindo os pacientes octogenários, pois proporciona o prolongamento e melhora da qualidade de vida desses pacientes. Mesmo com os índices baixos de mortalidade hospitalar, a morbidade pós-operatória se mantém, principalmente nos pacientes com doenças associadas (LAPAR *et al.*, 2011).

Dentre as doenças cardiovasculares está o infarto agudo do miocárdio (IAM), evento ocasionado pela obstrução ao fluxo sanguíneo, geralmente por placa aterosclerótica ou trombo, provocando hipóxia, redução da oferta de oxigênio (O_2). O tecido localizado após a obstrução não recebe irrigação sanguínea e passa a ocorrer isquemia. Na lesão isquêmica, o tecido fica privado de O_2 e nutrientes, e necessita de outra fonte de energia para manter a viabilidade celular, além disso, ocorre uma sobrecarga intracelular

de cálcio. A falta de O_2 compromete a fosforilação oxidativa mitocondrial e como consequência, a célula perde a principal fonte de produção de energia, a adenosina trifosfato (ATP). Para suprir a demanda de ATP, a via glicolítica anaeróbica é incrementada, gerando acúmulo de lactato e de íons hidrogênio (KRIEGER, 2008).

Além dessas etapas e modificações na maquinaria celular durante a isquemia, os cardiomiócitos em processo isquêmico produzem espécies reativas de oxigênio (EROs), que danificam os ácidos graxos que compõem os fosfolípidios das membranas. Essas alterações provocam um aumento progressivo da permeabilidade da membrana plasmática, alterações graves nos eletrólitos intracelulares, podendo desencadear a ruptura física da membrana celular, levando a resposta inflamatória aguda que pode prejudicar as células adjacentes (KRIEGER, 2008).

A lesão por reperfusão cardíaca é um fenômeno fisiopatológico, que consiste na perda da homeostase intracelular, devido à redução ou ausência do oxigênio por insuficiência do suprimento sanguíneo, onde com a desobstrução do fluxo vascular, a célula cardíaca em processo de isquemia recebe uma concentração elevada de O_2 e cálcio (Ca^{+2}), bem como, entra em contato com as EROs que promovem degradação lipídica e proteica (ARTIGOU *et al.*, 1993).

Com o enfoque de melhorar a proteção miocárdica durante procedimentos que envolvam lesão de reperfusão, voltaram-se as atenções para a pesquisa de drogas citoprotetoras com ação em segmentos do metabolismo celular, utilizadas isoladamente ou em associação, para reduzir ou prevenir o dano sobre a célula cardíaca (PARANG *et al.*, 2005).

Nesse contexto, drogas derivadas de produtos naturais podem apresentar-se como substâncias com efeitos terapêuticos e então, caracterizarem-se por ter um potencial farmacêutico. O CAR, 2-metil-5-isopropilfenol é um monoterpene fenólico, presente em óleos essenciais produzidos por numerosas plantas aromáticas e espécies da família *Lamiaceae*, incluindo o gênero *Origanum* e *Thymus*. Algumas ações biológicas do CAR são conhecidas como atividade antioxidante, anti-inflamatória, antinociceptiva, antimicrobiana e antitumoral, bem como, aditivo alimentar com função de conservante (ALPHEN *et al.*, 2012; SOBRAL *et al.*, 2014).

O CAR é um óleo com elevada viscosidade e volatilidade, além disso, apresenta baixa solubilidade. Existem diversos métodos farmacêuticos que buscam melhorar características físicoquímicas de compostos lipossolúveis, como a solubilidade e volatilidade. Dentre esses métodos está a formação de complexo de inclusão, normalmente realizada com as ciclodextrinas (CD), oligossacarídeos cíclicos.

A β -CD é um tipo de ciclodextrina bastante utilizada em formulações que resultem em preparações mais estáveis e melhoras terapêuticas. A incorporação das ciclodextrinas em sistemas farmacêuticos constitui uma

realidade consolidada. Na área farmacêutica, a β -CD é um excipiente que tem sido explorado principalmente no incremento da solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de medicamentos (SZEJTLI, 2005; CUNHA-FILHO, SÁ-BARRETO, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito cardioprotetor do complexo de inclusão carvacrol/ β -ciclodextrina na lesão de reperfusão cardíaca após isquemia em ratos.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1 Mensurar a extensão da lesão isquêmica cardíaca após o pré-tratamento com carvacrol/ β -ciclodextrina e carvacrol;

2.2.2 Analisar a atividade de enzimas antioxidantes após a lesão de isquemia e reperfusão cardíaca em animais submetidos ao pré-tratamento com carvacrol/ β -ciclodextrina e carvacrol.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Complexação do Carvacrol à β -Ciclodextrina

O CAR com 98% de pureza (lote # S40656V) e a β -CD com 97% de pureza (lote # MKBR3596V) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Brasil. As amostras foram obtidas por três métodos diferentes. A mistura física (PM) foi preparada mediante a adição de CAR (150 mg, com base no seu peso molecular) a um almofariz contendo β -CD, sob agitação manual, na razão molar 1:1. A amostra foi armazenada em recipientes de vidro, hermeticamente fechados. A coevaporação foi o método que obteve maior índice de complexação parcial na proporção 1 β -CD:0,2 CAR, portanto as amostras preparadas por este método foram às utilizadas no tratamento *in vivo* dos ratos.

3.2 Animais

Foram utilizados ratos Wistar pesando entre 250 a 300 g e idade entre 2 e 3 meses. Os animais foram provenientes do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da UFS, e mantidos no Biotério Local do Laboratório de Biologia Cardiovascular e Estresse Oxidativo (LaBCEO) em gaiolas de polipropileno com grade de aço inoxidável (em número de até 5 animais/caixa) com temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo claro/escuro (12/12 h) controlado por temporizador, ração e água *ad libitum*, até o dia do experimento.

Os procedimentos experimentais realizados nos animais foram

submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UFS sob protocolo 03/2015. Todos os procedimentos experimentais envolvidos no presente estudo estiveram de acordo com a Lei 11.794 e a Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

3.3 Grupos Experimentais

Salina (veículo): animais pré-tratados com solução salina 0,9% v.o., que tiveram seus corações isolados e submetidos à isquemia e reperfusão.

Carvacrol/ β -ciclodextrina 25 mg/Kg (CAR/ β -CD 25): animais pré-tratados com CAR/ β -CD 25 mg/Kg v.o., que tiveram seus corações isolados e submetidos à isquemia e reperfusão.

Carvacrol livre 25 mg/Kg (CAR 25): animais pré-tratados com CAR 25 mg/Kg v.o., que tiveram seus corações isolados e submetidos à isquemia e reperfusão.

Cada grupo experimental foi composto por 5 animais, o tratamento foi administrado em doses diárias, via oral (v.o.) por gavagem, durante 7 dias. A administração do tratamento foi realizada sempre no mesmo horário do dia, com o objetivo de evitar o viés do período de efeito da substância entre uma administração e outra. O CAR/ β -CD, salina (veículo) e CAR livre (CAR) foram administrados utilizando a solução salina 0,9% como veículo. O peso corporal dos animais foi monitorado durante todo o tratamento.

No 8º dia administrou-se heparina (1.000 U.I./kg) nos animais, via intraperitoneal (i.p.), substância anticoagulante. Após aguardar 15 minutos, os animais foram mortos, tiveram o coração removido e submetido à isquemia global e reperfusão *ex vivo*.

4. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

4.1 Perfusão dos Corações Isolados - Modelo de Isquemia e Reperfusão *ex vivo*

O sistema de Langendorff com pressão de perfusão constante foi utilizado nos experimentos de avaliação da função contrátil cardíaca (Figura 1) e neste mesmo sistema foi realizado o modelo de isquemia global e reperfusão cardíaca, simultaneamente ao estudo dos parâmetros fisiológicos cardíacos do órgão isolado. Os registros das medidas de pressão sistólica e diastólica foram obtidos por transdutor de pressão (HP 1290A), amplificados (HP 8805B) e digitalizados (DATAQ DI-205, DI-400, Windaq Pro) e gravados em computador utilizando-se, para aquisição dos dados, o software WindaqEx (BURT *et al.*, 2014).

Figura 1: Esquema do Sistema de Perfusão Langendorff



Fonte: BONETTO (2015)

Para a perfusão do coração foi utilizada solução de Krebs-Henseleit, oxigenada com mistura carbogênica (95% de CO_2 e 5% de O_2 - White Martins®, Brasil) e aquecida a 37°C por uma jaqueta de água acoplada a um reservatório com um termostato (HAAKE C F3). Após o período de estabilização, primeiros 20 minutos, as medidas foram coletadas por mais 30 minutos de isquemia global, cujo fluxo foi interrompido, e 60 minutos de reperfusão, com retorno do fluxo.

4.2 Análise da Dimensão da Região Infartada

Para avaliação macroscópica do tamanho do infarto, os corações foram tratados com cloreto de trifêniltetrazólio (TTC), seccionados ($\pm 2 \mu\text{m}$) e incubados em solução de TTC 1% (diluído em solução de Krebs-Ringer) durante 10 minutos. Após esse período, os cortes foram mergulhados em solução de formalina tamponada por 30 min, para a remoção do excesso da coloração. Em seguida, os tecidos foram digitalizados e as imagens analisadas com o software ImageJ 1.38x (NIH), sendo as mesmas normalizadas pelo tamanho do coração.

4.3 Determinação da Atividade da Enzima Superóxido Dismutase

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi mensurada através da formação de $\text{O}_2^{\cdot -}$ pela auto-oxidação do pirogalol e a inibição da redução do sal de tetrazolium (MTT) segundo Madesh e Balasubramanian (1998).

Resumidamente, o tecido foi homogeneizado em tampão fosfato (PBS 50 mmol, pH 7,4), centrifugado a 12.000 rpm (Heal Force, Neofuge 15R) por 30 minutos. A reação foi realizada pipetando em placa de Elisa: o sobrenadante obtido, PBS, MTT (1,25 mmol) e pirogalol (100 μ mol). A microplaca foi agitada por 5 min e logo após acrescentou-se dimetilsulfóxido (DMSO). A leitura foi realizada em leitor de microplaca (Biotek, ELx800 Absorbance Microplate Reader) a 570 nm. A atividade da SOD foi expressa em unidade de SOD por mg de proteína.

4.4 Determinação da Atividade da Enzima Catalase

A atividade da enzima foi determinada em tampão fosfato (50 mmol, pH 7,0). Alíquotas do homogeneizado foram adicionadas ao tampão fosfato e a reação iniciada com a adição de 0,3 molar H_2O_2 . As medidas foram realizadas em intervalos de 20 s (0, 20, 40 e 60 s) em cubeta de quartzo, imediatamente após o início da reação, a 25°C, em espectrofotômetro (Hitachi, Japão), com comprimento de onda de 240 nm. A atividade da CAT foi calculada utilizando a fórmula $\Delta E/\text{min}/\text{mg}$ proteína. Onde, ΔE é o valor da variação da absorbância entre a primeira e a quarta leitura (GIODA *et al.*, 2010).

4.5 Avaliação da Atividade da Enzima Glutathiona Peroxidase

Amostras foram homogeneizadas em tampão fosfato de sódio 50 mmol acrescido de KCl 140 mmol; pH 7,4. Centrifugação a 12.000 rpm por 30 min à 4°C. Outros reagentes utilizados no ensaio, nesta respectiva ordem: tampão fosfato de sódio 100 mmol contendo ácido etilenodinitrilo tetra-acético - EDTA 5 mmol; NADPH 8,4 mmol; glutathiona redutase (GR); ázida sódica 1,125 mol; glutathiona reduzida (GSH) 0,15 mmol; peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 2,2 mmol.

Este é um tipo de ensaio cinético que avalia a atividade da GPx ao longo do tempo de acordo com o consumo do NADPH, através da oxidação do mesmo. A leitura foi realizada no espectrofotômetro de placa à 340 nm, à 25°C, durante 6 min, com uma nova leitura a cada 1 minuto (FLOHÉ e GÜNZLER, 1984).

4.6 Análise Estatística

Para análises dos dados foram utilizados os softwares Microsoft Office Excel 2007 e Prism 5.1. (GraphPad, San Diego, CA, USA). Considerou-se valor estatisticamente significativo $p < 0,05$.

O acompanhamento do peso dos animais durante o tratamento, por ser um dado paramétrico, foi expresso através da média e desvio padrão. Para os dados obtidos na avaliação dos parâmetros cardíacos e dos ensaios enzimáticos utilizou-se o teste de análise de variância ANOVA de uma via. Em seguida, aplicou-se o teste de Tukey, para análise da comparação múltipla,

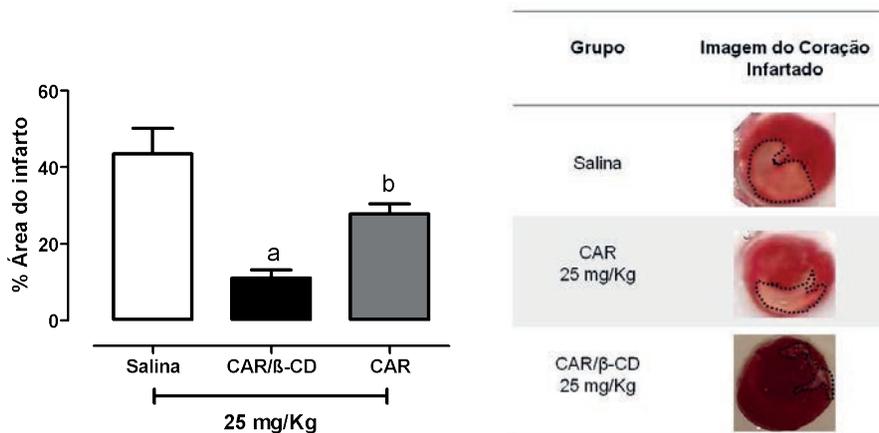
que permite testar qualquer contraste, entre duas médias de tratamentos.

5. RESULTADOS

O melhor método para diagnóstico *post-mortem* do infarto do miocárdio depende da fase em que ocorre a necropsia. Nos primeiros dias de necrose miocárdica o exame histopatológico pode suscitar dúvidas quanto aos limites do território necrosado. Para esta fase, o uso de trifeniltetrazólio (TTC) é mais preciso. Em contato com células vivas, este corante é reduzido por desidrogenases e assume a cor vermelha escura. Células mortas, que não dispõem mais das formas reduzidas de desidrogenases, não são coradas. A colocação do miocárdio em solução de formalina tamponada, posteriormente, elimina a cor vermelha da hemoglobina presente no hematoma da região necrosada, clareando-a. Portanto, sabe-se que o TTC possibilita a caracterização da necrose imediatamente após a morte celular (TUCCI, 2011).

Os animais pré-tratados com CAR/β-CD e CAR na dose de 25 mg/Kg apresentaram significativa redução da área isquêmica, representada na foto pela coloração esbranquiçada (Figura 2) quando comparados ao veículo. Os corações do grupo CAR/β-CD apresentaram menor área de lesão quando comparado ao grupo CAR ($11,1 \pm 4,2\%$ vs $27,8 \pm 4,5\%$ e $43,4 \pm 11,6\%$), respectivamente, indicando que a forma complexada do CAR apresenta maior efeito cardioprotetor.

Figura 2: Área de infarto cardíaco em animais pré-tratados por 7 dias com carvacrol (CAR), veículo (salina) ou complexo de inclusão (CAR/β-CD) e submetidos à isquemia cardíaca global e reperfusão (n = 5 por grupo). Abaixo, imagens representativas dos corações infartados. Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA uma via, seguida do Teste Tukey. ^{a,b}p < 0,05 vs Salina.



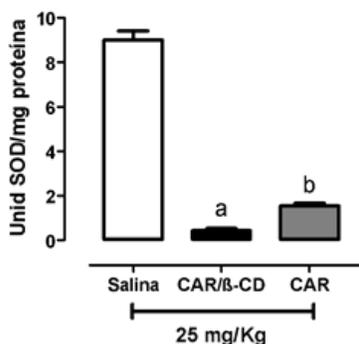
No processo de manutenção da homeostase, o organismo conta com componentes importantes que contribuem com o estado fisiológico celular, são as enzimas antioxidantes. Enzimas são proteínas com função catalítica, que aceleram as reações químicas intracelulares.

Algumas enzimas antioxidantes atuam neutralizando as EROs e outras, os radicais livres, em prol da redução e controle dos danos celulares causados por estas espécies químicas. As enzimas antioxidantes mais comumente estudadas são SOD, CAT, GPx e GR. Estas estão presentes em vários tecidos, entre eles o cardíaco e o hepático.

Sabe-se que as moléculas antioxidantes apresentam a capacidade de doar elétrons e assim, agem estabilizando moléculas instáveis, mais comumente chamadas de radicais livres. O CAR é uma substância antioxidante que pode estar atuando dessa forma, reduzindo assim, a quantidade de EROs produzidas em grandes quantidades principalmente após a lesão de isquemia e reperfusão cardíaca.

A SOD é uma enzima antioxidante que promove a reação de conversão do $O_2^{\cdot -}$ em H_2O_2 . No presente estudo, demonstrou-se redução significativa da atividade da SOD em corações isolados dos grupos CAR 25 e CAR/ β -CD 25 (Figura 3). Essa redução pode ser consequência de menor quantidade de EROs na fase de reperfusão cardíaca pela ação antioxidante do CAR.

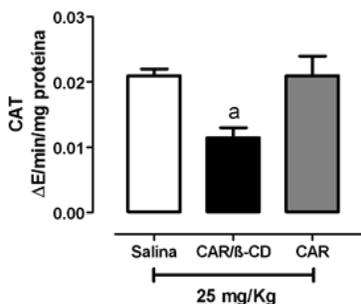
Figura 3: Atividade enzimática da Superóxido Dismutase (SOD) em tecido cardíaco. Animais pré-tratados por 7 dias com carvacrol (CAR), veículo (salina) e complexo de inclusão (CAR/ β -CD), submetidos à isquemia cardíaca global e reperfusão (n = 5 por grupo). Valores expressos em média \pm desvio padrão. ANOVA uma via, seguida do Teste Tukey. ^{a,b}p < 0,0001 vs Salina.



A CAT é outra enzima antioxidante que converte o H_2O_2 em oxigênio (O_2) e água (H_2O). No coração a atividade desta enzima apresentou redução

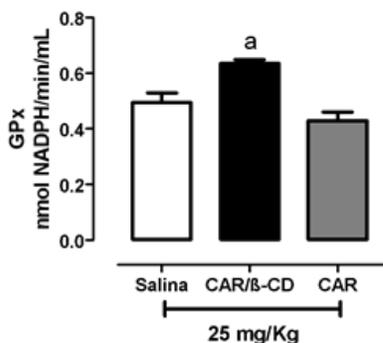
significativa somente no grupo CAR/ β -CD 25 quando comparado ao veículo (Figura 4).

Figura 4: Atividade enzimática da Catalase (CAT) em tecido cardíaco. Valores expressos em média \pm desvio padrão. ANOVA uma via, seguida do Teste Tukey. ^{a,b}p < 0,05 vs Salina.



As enzimas da família glutatona apresentam em comum a dependência da molécula glutatona (GSH) como substrato. Na presença de GSH a GPx produz H_2O a partir do H_2O_2 , enquanto converte a glutatona reduzida em glutatona oxidada (GSSG). A atividade da GPx no tecido cardíaco apresentou aumento significativo no grupo CAR/ β -CD 25 quando comparado ao CAR 25. Sabe-se que, a GPx no coração geralmente é mais ativada que a CAT, sendo assim, este resultado mostra que o pré-tratamento com CAR/ β -CD 25 mg/Kg aumentou a atividade da GPx, fato que não ocorreu com o grupo CAR 25 (Figura 5).

Figura 5: Atividade enzimática da glutatona peroxidase em tecido cardíaco. Valores expressos em média \pm desvio padrão. ANOVA uma via, seguida do Teste Tukey. ^ap < 0,05 vs CAR 25.



6. DISCUSSÃO

A indústria farmacêutica há anos utiliza tecnologias que melhoram o efeito de fármacos e vários estudos têm comprovado a hipótese da utilização das tecnologias farmacêuticas em prol da minimização de danos hepáticos, assim como de efeitos adversos, através de métodos como complexos de inclusão e nanopartículas (NAGAOKA *et al.*, 2015).

No presente estudo, houve redução significativa da região do infarto nos grupos CAR/ β -CD 25 e CAR 25 quando comparado a salina, indicando o efeito cardioprotetor do CAR, tanto em sua forma livre quanto complexada. Este resultado indica que o princípio ativo do CAR pode estar sendo preservado por mais tempo quando o mesmo encontra-se em complexo de inclusão à β -CD.

Yu, Liu e Zhu (2013) mostraram que o pré-tratamento com carvacrol livre nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg reduziu em 10%, 15% e 18% respectivamente a dimensão da área do infarto do miocárdio em coração de ratos submetidos a isquemia global *ex vivo*, se comparado ao grupo veículo. Estes autores relataram ainda que a redução da área infartada foi dependente de concentração. Apesar da redução do infarto ter sido maior na dose de 100 mg/Kg, pode-se notar que este efeito não foi tão significativo quando observado o tratamento com 50 mg/Kg. Sabe-se ainda que, a administração de drogas em doses mais altas pode promover uma sobrecarga hepática e levar alguns hepatócitos à falência. Nossos resultados concordaram com estes autores, além de demonstrar que a complexação do CAR à β -CD favorece o seu efeito bioativo, podendo utilizar doses menores para obter resposta eficaz.

A atividade enzimática da SOD apresentou redução significativa no coração em CAR/ β -CD 25 e CAR 25 quando comparado ao veículo (Figura 30). Tais resultados se assemelham aos de Yu, Liu e Zhu (2013) os quais mostraram que o pré-tratamento com CAR livre reduziu a atividade da SOD nas doses de 25 ($20,76 \pm 1,11$ U/mg proteína), 50 ($22,34 \pm 1,14$ U/mg proteína) e 100 mg/Kg ($23,08 \pm 1,15$ U/mg proteína) quando comparado ao veículo ($24,70 \pm 1,53$ U/mg proteína), sendo que a menor dose apresentou uma maior redução da atividade desta enzima.

O timol é o isômero do CAR, e apresenta atividades biológicas, dentre elas antioxidante. No modelo de infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos foi realizado o pré e co-tratamento com o timol 7,5 mg/Kg/dia, durante 7 dias. O grupo veículo mostrou aumento significativo das atividades de marcadores cardíacos de diagnóstico, peroxidação lipídica, cálcio, e redução nas atividades de SOD, CAT, GPx. O pré e co-tratamento com timol mostraram efeitos próximos aos normalizadas sobre todos os parâmetros bioquímicos estudados. Os nossos resultados concordam com esse achado científico, sendo que o pré-tratamento com CAR reduziu as atividades da SOD e CAT, assim como ocorreu com o timol (NAGOOR, JAGADEESH, SELVARAJ, 2016).

7. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou efeitos cardioprotetores do carvacrol complexado à β -ciclodextrina 25 mg/Kg principalmente através da melhora função cardíaca após a lesão de isquemia e reperfusão; redução da área de infarto cardíaco e redução da atividade de importantes enzimas antioxidantes após a lesão de isquemia e reperfusão cardíaca.

O carvacrol pode contribuir para a ciência farmacêutica no futuro produzir fármacos que possam ser utilizados no tratamento de pacientes com cardiopatia aguda, como a síndrome coronariana aguda, com o objetivo de prevenção dos danos oxidativos decorrentes da lesão de reperfusão cardíaca.

REFERÊNCIAS

ALPHEN *et al.* Effect of carvacrol on *C. jejuni*. *Plos One*. Volume 7, Issue 9, e45343. 2012.

ARTIGOU *et al.* A double-blind randomised dose-effect trial of anisoylated plasminogen streptokinase activator complex (APSAC) in acute myocardial infarction. *Clin. Trials Meta-analys.* 28(6):317-328; 1993.

BOCCHI *et al.* III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. *Arq Bras Cardiol.* 93;(1 Supl 1):1-71, 2009.

BONETTO, Jéssica Hellen Polleto. Efeito do Sulforafano sobre a função mecânica e parâmetros de estresse oxidativo de corações isolados de ratos submetidos à isquemia e reperfusão. Dissertação de mestrado em ciências biológicas. UFRGS 2015.

BRASIL. Portaria nº 2.994 do Ministério da Saúde, de 13 de dezembro de 2011.

BURT *et al.* Carvacrol Inhibits QS and Biofilm Formation. *Plos One*, volume 9, issue 4, e93414; 2014.

CUNHA-FILHO, M.S.S.; SÁ-BARRETO, L.C.L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 28, n.1, p.1-9, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DATASUS [Internet]. Brasília: 2015 [cited 2015 Jan 11]. Available from:<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>

FLOHÉ & GÜNZLER. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 105:114-21; 1984.

GIODA, *et al.* Cardiac oxidative stress is involved in heart failure induced by thiamine deprivation in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* n.6, 298: 2039-45, 2010.

KRIEGER, J. E. Bases moleculares das doenças cardiovasculares: a integração entre a pesquisa e a prática clínica. São Paulo: Atheneu, cap. 35. 2008.

LAPAR *et al.* Is off-pump coronary artery bypass grafting superior to conventional bypass in octogenarians?. *J Thorac Cardiovasc Surg* 141(1):81-90, 2011.

MADESH & BALASUBRAMANIAN. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, vol. 35, June 1998.

NAGAOKA *et al.* A New Therapeutic Modality for Acute Myocardial Infarction: Nanoparticle-Mediated Delivery of Pitavastatin Induces Cardioprotection from Ischemia-Reperfusion Injury via Activation of PI3K/Akt Pathway and Anti-Inflammation in a Rat Model. *PLoS ONE* 10(7): e0132451. (2015).

NAGOOR, JAGADEESH, SELVARAJ. Thymol, a dietary monoterpene phenol abrogates mitochondrial dysfunction in β -adrenergic agonist induced myocardial infarcted rats by inhibiting oxidative stress. *Chem Biol Interact.* 244:159-68. 2016.

PARANG *et al.* Metabolic modulators for chronic cardiac ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 10(4):217-23; 2005.

SOBRAL *et al.* Antitumor Activity of Monoterpenes Found in Essential Oils. *The Scientific World Journal.* 2014.

SZEJTLI, J. Cyclodextrin complexed generic drugs are generally not bio - equivalent with the reference products: therefore the increase in number of marketed drug. *J Incl Phenom Macroc Chem*, 52, p. 1-11, 2005.

TUCCI, P. J. F. Pathophysiological Characteristics of the Post-Myocardial Infarction Heart Failure Model in Rats. *Rev Soc Bras Cardiol* 2011.

World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014. 280p.

YU, LIU e ZHU. Carvacrol Protects against Acute Myocardial Infarction of Rats via Anti-oxidative and Anti-apoptotic Pathway. *The Pharmaceutical Society of Japan.* Vol. 36, No. 4. 2013.

CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF CARVACROL/ β -CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEX IN CARDIAC REPERFUSION INJURY

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the cardioprotective potential of the inclusion complex carvacrol/ β -cyclodextrin (CAR/ β -CD) in preventing damage caused by reperfusion injuries to cardiac function. For this purpose, Wistar rats (250-300 g) were divided into 3 groups and pretreated for 7 days with CAR/ β -CD, CAR, saline (25 mg/kg/day, orally) and then subjected to ischemia and ex vivo cardiac reperfusion. The measurement of systolic and diastolic ventricular pressure was performed using a Langendorff system. The region of the infarction and the arrhythmia severity index were calculated. The enzymatic activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) were evaluated. In the statistical analysis, one-way ANOVA was applied, followed by the Tukey test. Animals pretreated with 25 mg/Kg

of CAR/ β -CD had better contractile performance after ischemia in the percentage of pressure developed in the left ventricle when compared to those pretreated with 25 mg/Kg CAR (69.6 ± 1.8 vs $34.1 \pm 4.7\%$). Reduction of the infarct region in the CAR/ β -CD 25 group when compared to CAR 25 and saline, indicating the cardioprotective effect of CAR/ β -CD (11.1 ± 4.2 ; 27.8 ± 4.5 ; $43.4 \pm 11.6\%$). In heart, SOD and CAT were reduced in the CAR/ β -CD 25 group. The GPx in heart was high in the CAR/ β -CD 25 group compared to CAR 25. These results indicate that the CAR inclusion complex / β -CD 25 mg/Kg promoted cardioprotection in cardiac reperfusion injury in rats by reducing oxidative damage to lipids, preservation of cardiac tissue by a probable decrease in reactive oxygen species.

KEYWORDS: Myocardial infarction; Carvacrol; Oxidative stress; β -cyclodextrin.



ÁREA CLÍNICA: PSIQUIATRIA E NEUROLOGIA

SEÇÃO 2

PRONTIDÃO PARA A MUDANÇA DE COMPORTAMENTO DE DEPENDENTES QUÍMICOS DE ÁLCOOL EM TRATAMENTO EM CAPS AD

Roberto Mendes dos Santos

lattes.cnpq.br/6651861813051708

Hospital Universitário Lauro
Wanderley
João Pessoa, Paraíba

Murilo Duarte da Costa Lima

lattes.cnpq.br/7326848275529161

Universidade Federal de
Pernambuco
Recife, Pernambuco

RESUMO - Introdução: a prontidão para mudança, expressa como a vontade de se inserir em um processo pessoal de adotar um novo comportamento, pode ser associada à adesão ao tratamento de alcoolistas. Objetivo: conhecer as características clínicas relacionadas à prontidão de alcoolistas para permanecer em tratamento. Método: Trata-se de estudo analítico, longitudinal, de acompanhamento de pacientes, com amostragem não probabilística do tipo intencional, realizada com 41 indivíduos dependentes químicos de álcool em tratamento em dois Centros de Atenção Psicossocial para álcool e outras Drogas (CAPSAd) da região metropolitana de João Pessoa/PB. O estudo verificou a existência

de dependência química de álcool dos sujeitos na chegada para o tratamento, por meio do instrumento *The Alcohol Use Identification Test* (AUDIT), e identificou o estágio de prontidão para a mudança de comportamento em três diferentes momentos, através da escala *University of Rhode Island Change Assessment Scale* (URICA). Resultado: o público foi formado, em sua maioria, de indivíduos do sexo masculino, com idade média de 44 anos, baixa escolaridade, de classificação econômica Brasil C1 e C2, desempregados, e com cerca de 24 anos de consumo alcoólico. Em relação ao estágio motivacional, a maioria dos pacientes (53,66%) encontrava-se em estado de pré-contemplação, no qual os indivíduos não enxergam a mudança como algo necessário, e apenas 7 sujeitos chegaram ao final dos três meses de pesquisa em tratamento regular. Conclusão: os dados obtidos demonstram a importância da identificação de fatores de modificação dos aspectos motivacionais na construção de projetos terapêuticos mais consentâneos às necessidades terapêuticas individuais.

PALAVRAS-CHAVE: Alcoolismo;

Motivação; Entrevista motivacional.

1. INTRODUÇÃO

O hábito de consumir drogas é uma prática humana, milenar e universal. Não existe sociedade que não tenha recorrido ao seu uso, em todos os tempos, com finalidades as mais diversas. Seja para amainar dores, para trazer relaxamento, euforia, ou mesmo para atingir níveis alterados de consciência, as substâncias psicoativas sempre estiveram presentes na evolução das sociedades (SEIBEL, 2010).

A despeito da quantidade e da qualidade da produção científica que versa sobre o assunto, há uma série de interrogações sobre o percurso que o usuário percorre até o momento do início do uso, e principalmente que fatores mantenedores foram importantes para aquele indivíduo. Em nosso meio, uma droga em específico chama a atenção da opinião pública e dos profissionais de saúde, tanto pelo número de usuários, como pelo potencial de efeitos devastadores provocados em seus usuários: o álcool.

O álcool seria fonte de sérios problemas de saúde pública, determinante de 10% de toda a morbidade e mortalidade ocorrida no Brasil (MELONI e LARANJEIRA, 2004). Além disso, O 2º Levantamento Nacional de álcool e drogas (LENAD), realizado pelo Instituto nacional de Ciências e Tecnologia para políticas públicas do álcool e outras drogas (IMPAD), publicado em 2013, mostra que 48% da população brasileira com mais de 14 anos de idade faz uso abusivo de bebidas alcoólicas, o que corresponderia a mais de 67 milhões de pessoas. Destas, 17% preencheriam critérios clínicos para dependência química de álcool (LARANJEIRA *et al.*, 2013).

A Política do Ministério da Saúde para atenção integral a usuários de álcool e outras drogas direciona, como espaço mais eficaz para acolher e oferecer tratamento especializado para a dependência química, o Centro de Atenção Psicossocial para álcool e outras Drogas (CAPSad) (BRASIL, 2003).

O Centro de Atenção Psicossocial é um serviço de saúde de base comunitária, construído para acolher indivíduos com transtornos mentais graves e crônicos, além de seus familiares, incentivando iniciativas de busca de autonomia através da oferta de atendimento especializado (BRASIL, 2010). O CAPSad tem como público-alvo indivíduos com problemas clínicos secundários ao uso prejudicial de álcool e/ou de outras drogas, a partir de projetos terapêuticos pautados em terapia individual e comunitária.

Apesar da progressão do número de pessoas que fazem uso nocivo desta substância, é pequena a porcentagem de dependentes de álcool que procura tratamento. Um dos fatores que pode explicar a dificuldade para a aderência ao tratamento seria a motivação para mudar tal comportamento (FIGLIE *et al.*, 2000).

A ideia de que as pessoas progridem através de estágios motivacionais na resolução de um problema tem se mostrado de vital

importância para os profissionais que lidam com dependência química (PROCHASKA e DICLEMENTE, 1994). A motivação pode ser refletida em estágios de prontidão para a mudança, e pode flutuar de uma situação para outra, sofrendo influência de fatores internos ou externos.

O Modelo Transteórico de Mudança de Comportamento, construído por James Prochaska, descreve a prontidão para a mudança a partir de estágios motivacionais pelos quais o indivíduo transita (PROCHASKA, 1979). O Modelo Transteórico foca a mudança intencional, ou seja, a tomada de decisão do indivíduo, e a mudança comportamental se tornaria um processo em que as pessoas teriam níveis diversos de prontidão para mudar.

Segundo esse modelo, no primeiro estágio da pré-contemplação, o indivíduo ignora os aspectos negativos de seu problema e não leva em conta a necessidade de ajuda; na segunda fase, de contemplação, a pessoa passa a tomar consciência de seu problema, estabelecendo-se a ambivalência, o conflito entre o desejo conservar o comportamento e o de mudar; ao colocar em prática as primeiras tentativas de mudança, a pessoa estará no quarto estágio de ação; no último estágio, da manutenção, o indivíduo evita a recaída, modifica seu estilo de vida, e consolida suas mudanças (PROCHASKA e DICLEMENTE, 1982).

O objetivo deste estudo foi identificar quais características clínicas podem fazer indivíduos ser mais susceptíveis a permanecer motivados para o tratamento em CAPSad, e quais estratégias poderiam ser desenvolvidas para potencializá-las.

2. MÉTODOS

2.1 Delineamento

Este é um estudo analítico, longitudinal, de amostragem não probabilístico do tipo intencional, de acompanhamento de quarenta e um pacientes, os quais estavam a iniciar processo de tratamento em dois CAPSad (Centro de Atenção Psicossocial para álcool e outras drogas) da região metropolitana de João Pessoa/PB: o CAPSad David Capistrano, localizado no bairro do Rangel, e no CAPSad Primavera, localizado na cidade de Cabedelo/PB.

2.2 Público-alvo

Foram convidados a participar desta pesquisa todos os pacientes usuários exclusivamente de álcool como substância de abuso, a partir dos 18 anos de idade, de ambos os sexos, que procurem tratamento nos CAPSad selecionados para o estudo e que concordem com a participação no estudo. Os critérios de exclusão foram: não ter história atual ou pregressa de uso de outra substância psicoativa de abuso e haver deficiência cognitiva que

impeça a compreensão das perguntas questionadas.

2.3 Procedimento de coleta de dados

Os sujeitos, ao serem submetidos à triagem e à construção de projeto terapêutico no CAPS, foram consultados a respeito do seu interesse em participar deste estudo. Após o preenchimento de questionário com informações sócio-demográficas, verificou-se a intensidade do consumo de álcool através da aplicação de questionário *The Alcohol Use Identification Test* (AUDIT), desenvolvido pela Organização Mundial de Saúde (BABOR e GRANT, 1989), e traduzido e validado no Brasil por Lima *et al.* (2005).

Apenas para aqueles em que a dependência química de álcool fosse verificada, foi identificado o estágio de prontidão para a mudança de comportamento em três diferentes fases do tratamento - no início do tratamento, após trinta dias e após três meses de seguimento, através da escala *The University of Rhode Island Change Assessment Scale* (URICA), desenvolvida por McConaughy & cols. (1983), e padronizada no Brasil por Figlie (1999). É uma escala que busca avaliar os estágios motivacionais de indivíduos, contendo trinta e duas perguntas divididas em quatro sub-escalas, as quais abrangem os seguintes estágios de mudança comportamental: pré-contemplação, contemplação, ação e manutenção.

2.4 Procedimentos de Análise estatística

Para atingir os objetivos postulados, se fez necessária a aplicação de duas técnicas estatísticas: análise descritiva e exploratória de dados e teste de associação de Fisher.

3. RESULTADOS

3.1 Perfil do dependente de álcool

De um modo geral, a idade média dos pacientes foi de aproximadamente 44 anos ($\pm 9,9$ anos) com baixa escolaridade ($8,10 \pm 3,99$), das classes econômicas C1 e C2 (53,66%) e com cerca de vinte e quatro anos ($\pm 10,65$ anos) de uso de álcool. Além disso, observa-se que 80,49% dos indivíduos são homens; de cor parda (65,85%); sem relação marital (70,73%); católicos (56,10%); em geral, autônomos em suas profissões (34,15%), contudo existiu importante parcela de desempregados (39,02%); com escore médio no AUDIT de $32,73 \pm 4,44$ pontos.

Em relação ao estágio motivacional, a grande maioria dos pacientes (53,66%) encontrava-se em um estado de pré-contemplação, no qual os indivíduos não desejam ou não enxergam a mudança como algo necessário.

Pode-se afirmar inicialmente que a predisposição às mudanças

(estágio motivacional) não estava associada às características de sexo, idade, cor, estado civil, anos de estudo ou anos de uso de álcool. Por outro lado, mesmo não se constatando associações significativas, nota-se que, independentemente do grau de motivação, a maioria dos indivíduos eram homens, pardos e sem relação marital.

Para os pacientes em um estágio de pré-contemplação, a maioria tinha entre 40 e 50 anos (40,91%), com baixa escolaridade (5 a 10 anos de estudo) e com 15 a 30 anos de convivência com o álcool (50,00%).

Para os pacientes em estágio de contemplação, 75% deles tinha menos de 40 anos, metade com baixa instrução (5 a 10 anos de estudo) e a outra metade com mais de 10 anos de estudo; e com 15 a 30 anos de convivência com o álcool (50,00%).

Já para os indivíduos em estágio motivacional de ação, notou-se que mais de 90% possuía 40 anos ou mais, com mais de 10 anos de estudo (4,545%), embora uma boa parcela (45,45%) com mais de 30 anos de uso de álcool.

Por fim, o conjunto característico dos pacientes em estágio motivacional de manutenção revelou que 75% deles tinha menos de 40 anos, metade com baixíssima instrução (até cinco anos de estudo) e a outra metade com mais de 10 anos de estudo. Além disso, constata-se que todos os pacientes nesse estágio convivem com o álcool há entre 15 e 30 anos.

3.2 Caracterização do Perfil Motivacional dos Pacientes

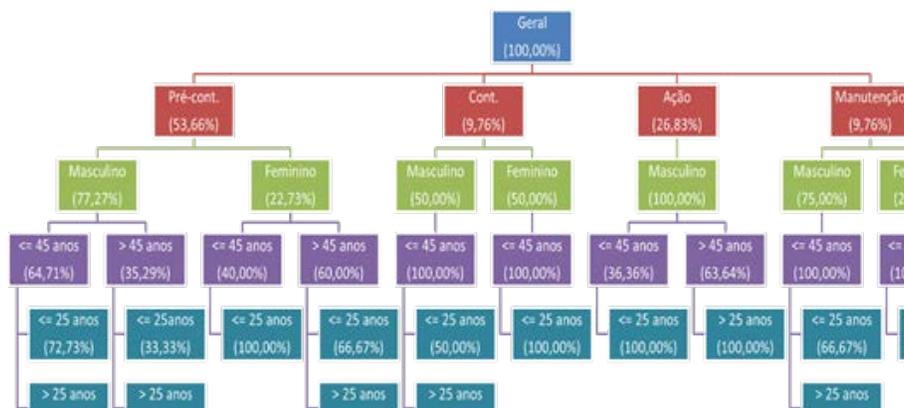
Como forma de facilitar as interpretações, foi construído, na FIGURA 1, o mapeamento do perfil dos padrões motivacionais dos pacientes segundo as características de sexo, idade e tempo de uso de álcool. Assim, do total de avaliações, 53,66% dos indivíduos foram diagnosticados no estágio de pré-contemplação; 9,76% no estágio de contemplação; 26,83% no estágio de ação; e 9,76% diagnosticados no estágio de manutenção.

Um detalhe óbvio, mas importante, observado foi o fato de que, independentemente do estágio motivacional, e, em geral, ocorrendo com os homens, o tempo de uso de álcool foi diretamente proporcional à idade do paciente, ou seja, quanto mais velho for o indivíduo maior é o tempo de contato com a bebida.

Sendo mais específico, entre as avaliações que resultaram em um diagnóstico de pré-contemplação, 77,27% são homens com tempo de uso de bebida alcoólica proporcional à idade; dos diagnósticos que resultaram em contemplação, metade são mulheres, todas com idades de até 25 anos e com até 25 anos de convivência com o álcool; já dos diagnósticos que resultaram em um estágio de ação, todos são homens, em sua maioria, com idades superiores a 45 anos (63,64%), tendo todos mais de 25 anos de uso de bebida de alcoólica; por fim, das 4 avaliações que resultaram em um diagnóstico de manutenção, 25% são mulheres, todas com idades de até 45

anos e com até 25 anos de consumo de álcool.

Figura 1: Caracterização do perfil motivacional dos pacientes, segundo o sexo, idade e tempo de uso de álcool.



Dos quarenta e um pacientes avaliados na admissão ao tratamento, apenas quinze permaneceram em tratamento pelos próximos trinta dias, e participaram de uma segunda entrevista para reconhecer seu estágio de motivação para a mudança de comportamento: sete indivíduos se mantiveram no mesmo estágio de motivação inicial; três evoluíram e cinco regrediram.

Destes quinze pacientes, ao cabo de noventa dias, apenas oito permaneceram em processo terapêutico e por conseguinte tiveram a oportunidade de ser novamente entrevistados: cinco indivíduos mantiveram o mesmo estágio motivacional, três pacientes evoluíram e nenhum regrediu. Apesar da aparente melhoria nos índices de desempenho na terceira fase em relação à segunda fase, há de se lembrar de que tais melhoras se deram não porque houve uma evolução nos estágios motivacionais dos pacientes, mas sim porque o total de pacientes avaliados diminui na segunda e terceira entrevistas devido a desistência de muitos pacientes para com o estudo.

Figura 2: Evolução motivacional dos pacientes em função das de observação do estudo



4. DISCUSSÃO

Em relação ao perfil sócio demográfico dos pacientes participantes da pesquisa, percebe-se maioria do sexo masculino (80,49%), dado que corrobora trabalhos anteriores que demonstram maior prevalência de atendimentos de transtornos relacionados ao alcoolismo em homens (FREITAS *et al.*, 2012; VELHO, 2010; RESENDE, 2005; FIGLIE *et al.*, 2004).

Pesquisas afirmam que mulheres procuram menos os serviços de atendimento a usuários de álcool e drogas do que os homens, por razões como o estigma social em relação ao papel da mulher pelo perfil de uso da mulher ser diferente do homem (FARIA e SCHNEIDER, 2009; SIQUEIRA *et al.*, 2005; FOTIN *et al.*, 2005). Estes achados podem indicar que as mulheres conseguiriam ocultar a dependência por mais tempo e que, por conta da forma como a sociedade enxerga a mulher alcoolista, haveria maior preocupação em relação à autoimagem ao expor-se a um tratamento no qual dividiria confidências e experiências com outras pessoas.

A maioria dos sujeitos pesquisados apresentou escolaridade menor que nove anos de estudo formal, ou seja, não chegaram a completar o que hoje seria relativo ao ensino fundamental, e muitos deles não sabem ler e nem escrever corretamente. Sérgio Velho, ao estudar o epidemiológico dos usuários de substâncias psicoativas atendidos no CAPS AD de Londrina/PR, percebeu a associação entre uso de substâncias psicoativas e baixa escolaridade, e sugeriu a possibilidade para tal ocorrência seria que a ausência do conhecimento dos riscos e das consequências da utilização nociva de substâncias psicoativas pode favorecer o uso dessas substâncias (VELHO, 2010).

Além disso, serviços de saúde como o CAPS AD atenderiam uma camada social mais desfavorecida financeiramente, por se tratar de um

serviço público. E, ao estudar a classificação socioeconômica dos sujeitos pesquisados, percebemos apenas 12% destes em classes mais favorecidas (A e B), e uma maioria (53%) de indivíduos nas classes médias (C1 e C2), pelos critérios da Classificação Econômica Brasil (ABEP, 2012). Corroborando esta hipótese, a análise das informações laborais mostra uma maioria de indivíduos desempregados (39%), e mesmo entre aqueles os quais possuem emprego, este não teria vínculo empregatício (34%).

Em relação à situação conjugal, encontrou-se maior prevalência de alcoolistas entre aqueles que não possuem relação marital. Este achado está de acordo com Fontes *et al* (2006), ao realizar estudo de seguimento em alcoolistas em tratamento em um centro especializado, mas por outro lado se opõe aos dados encontrados por Sousa e cols. (2012), ao estudar o perfil de usuários de um CAPSad em Teresina-PI, e por Filizola e cols. (2006), em estudo que procurava compreender as consequências do alcoolismo em familiares de usuários (FONTES *et al.*, 2006; SOUSA, 2012; FILIZOLA *et al.*, 2006). Poder-se-ia postular se a ausência de um signficante marital pode tornar estes indivíduos um alvo mais exposto aos estímulos reforçadores do consumo abusivo de álcool.

A família do dependente deve ser convidada e incentivada a fazer parte do processo de tratamento. Além de se fazer presente nos atendimentos clínicos, se faz imprescindível sua participação nas ações dirigidas propriamente dirigidas aos familiares. Freitas *et al.* (2012) percebe esta problemática ao sugerir melhores resultados terapêuticos naqueles pacientes com maiores vínculos familiares, o que poderia advir tanto da proteção social contra estímulos convidativos ao consumo, quanto da construção de um novo olhar em relação à dependência química, a qual poderia ser enxergada mais como doença a ser tratada do que escolha relacionada a questões como caráter ou falta de responsabilidade com a própria vida.

Todos os indivíduos entrevistados apresentaram pontuação compatível com a dependência química quando avaliados pelo instrumento *The Alcohol Use Identification Test* (AUDIT). Isto pode demonstrar que, além de os serviços especializados estarem recebendo um público-alvo consentâneo com a gravidade clínica sugerida em seu arcabouço teórico⁴, estes serviços também estão sendo habilidosos em triar e manter em tratamento apenas sujeitos verdadeiramente dependentes químicos.

Este é o primeiro estudo nacional de seguimento a avaliar a prontidão para a mudança de comportamento e os estágios motivacionais em um ambiente de tratamento em CAPSad. Pelo papel central dado pelo Ministério da Saúde e pelas gestões em saúde de todo o país aos CAPS, chama à atenção a ausência de estudos clínicos que se aprofundem a conhecer características clínicas como as estudadas por este grupo de pesquisa, que poderiam contribuir no processo de adesão ao tratamento especializado. Desta feita, os achados clínicos neste sentido serão únicos.

Em relação ao estágio motivacional, avaliado pelo Modelo Transteórico

através da *University of Rhode Island Change Assessment Scale* (URICA), a grande maioria dos pacientes (53,66%) encontrava-se em um estado de pré-contemplação, no qual os indivíduos não desejam ou não enxergam a mudança de comportamento como algo necessário. Este achado clínico chama a atenção, já que são pacientes de serviço ambulatorial especializado, sem características hospitalares ou asilares, onde o indivíduo seria impelido por forças externas a ele (familiares, trabalho, justiça, entre outros) a realizar um tratamento.

Fontes *et al.* (2006), em estudo de seguimento que avaliou o comportamento de beber entre dependentes de álcool em um ambulatório especializado em hospital universitário, encontraram a maioria dos sujeitos em estágio de contemplação, justificada pela provável associação dos problemas clínicos com a bebida que fez os pacientes perceberem a necessidade de procurar ajuda para mudar o comportamento de beber. Pesquisas realizadas sobre a motivação para a mudança em dependentes químicos hospitalizados, também verificaram que a maioria dos participantes se encontrava no estágio de contemplação (SOUZA *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2011).

A predisposição às mudanças de estágio motivacional não foi associada às características de sexo, idade (faixa etária), cor, estado civil, anos de estudo ou anos de uso de álcool. De certa forma essa conclusão é compreensível, pois um indivíduo que chega ao ponto de procurar (sozinho, o que é raro, ou é levado e/ou forçado por outrem) um serviço especializado estaria adoecido do ponto de vista físico, clínico, emocional, psicológico e social, além de apresentar uma autoestima prejudicada por conta, inclusive, do longo tempo de convivência com a adicção.

Desse modo, esse conjunto de fatores corrobora para gerar um indivíduo muito resistente, em princípio, a quaisquer mudanças que lhe forem apresentadas. Nesse momento, talvez, um fator explicativo do estágio motivacional pré-contemplativo bastante interessante seria a investigação da funcionalidade e do suporte familiar recebido por esses pacientes, medido, pelo menos, na última fase do estudo.

Portanto, dos 41 pacientes avaliados na admissão, apenas 15 (36% da amostra) chegaram a ser reavaliados no período de 30 dias: sete indivíduos se mantiveram no mesmo estágio de motivação inicial, três evoluíram e cinco regrediram. Houve, então, o abandono do tratamento de 64% dos indivíduos. Com esses resultados, já seria possível afirmar que o sistema de tratamento e desenvolvimento oferecido pelo CAPS AD para cuidar do paciente dependente de álcool seria bastante ineficiente, pois não motiva os indivíduos a permanecer.

Após noventa dias de tratamento, observa-se que, de quinze pacientes avaliados no 2º momento, apenas oito indivíduos chegaram ao final da pesquisa (o que corresponde a 19% do total). Cinco indivíduos mantiveram-se no mesmo estágio motivacional e três indivíduos evoluíram; nenhum regrediu.

Evidencia-se, então, a necessidade da utilização de técnicas terapêuticas que auxiliem esses pacientes na percepção da existência de problemas e consequentes comportamentos a serem modificados e na superação de ambivalências, isto é, do conflito entre mudar e permanecer no comportamento atual. Técnicas terapêuticas fincadas na entrevista motivacional e de prevenção de recaídas poderiam auxiliar os pacientes a progredir em direção aos estágios de ação e de manutenção, estágio de maior evolução e no quais já discriminariam uma possibilidade de mudança.

A literatura mostra que a continuidade do tratamento para dependentes de álcool seria um percurso difícil de atingir, pois à medida que obstáculos, como recaídas e as dificuldades em abandonar a bebida falam mais alto que o desejo de não beber, poucos conseguem permanecer em tratamento sem fazer uso da bebida alcoólica, e indicam maior número de estudos clínicos que possam seguir de forma mais próxima o usuário de substâncias psicoativas, principalmente no que diz respeito à investigação dos tratamentos mais efetivos, a adoção de novas abordagens e mais alternativas de cunho preventivo (MONTEIRO *et al.*, 2011).

Ademais, pesquisas nesta temática observam que, se as práticas vigentes não têm se mostrado eficazes para manter os usuários com perfil de não adesão, dever-se-ia investir em implantar abordagens diferenciadas e mais precoces, potencializando a detecção de problemas antes do usuário ter a vida social e produtiva prejudicada pela dependência. Sugere ainda uma busca mais ativa por parte de governos e instituições de saúde mental como o CAPSad, um estreitamento em suas relações com outros programas de saúde, principalmente com o Programa de Saúde da Família (PEIXOTO *et al.*, 2010).

5. CONCLUSÃO

Os dados encontrados nesta pesquisa reforçam a dependência química de álcool enquanto problema de saúde pública, e ante essa situação o alto índice de abandono de tratamento torna-se um achado clínico preocupante.

Se faz imprescindível a busca constante de adequações das intervenções clínicas às necessidades dos dependentes de álcool por parte dos profissionais responsáveis pela montagem e pela execução dos projetos terapêuticos individuais, assim como também a identificação e a implementação de novas abordagens de motivação para se manter em tratamento mais efetivas, como por exemplo técnicas de prevenção à recaída e entrevista motivacional com o intuito de melhorar a eficácia. Através destas, seria possível quebrar resistências quanto a percepção do alcoolismo enquanto comportamento a ser modificado, além de se superar dúvidas e ambivalências no sentido de caminhar terapeuticamente rumo a um processo de mudança estruturado e duradouro.

Os dados aqui encontrados apontam para a necessidade da realização de novas pesquisas que avaliem pacientes alcoolistas, ou mesmo dependentes de outras drogas, que poderiam enfatizar os efeitos terapêuticos da integração de abordagens que aumentem a motivação dos pacientes para o tratamento em ambiente ambulatorial especializado.

REFERÊNCIAS

ABEP- Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. (2012). Critério padrão de classificação econômica. Disponível em <http://www.abep.org>. Acesso em: 14 jul. 2012.

BABOR, Thomas F.; GRANT, Marcus. Project on Identification and Management of Alcohol Related Problems: Report on Phase II. A randomized Clinical Trial of Brief Interventions in Primary Health Care. Geneva: World Health Organization, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Coordenação Nacional de DST/ Aids. A Política do Ministério da Saúde para atenção integral a usuários de álcool e outras drogas / Ministério da Saúde, Secretaria Executiva, Coordenação Nacional de DST e Aids. – Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Núcleo Técnico da Política Nacional de Humanização. Acolhimento nas práticas de produção de saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Núcleo Técnico da Política Nacional de Humanização. – 2. ed. 5. reimp. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

FARIA, Jeovane Gomes; SCHNEIDER, Daniela Ribeiro. O perfil dos usuários do CAPSad-Blumenau e as políticas públicas em saúde mental. **Psicologia & Sociedade**, v. 21, n. 3, p. 324-333, 2009.

FIGLIE, Neliana Buzi. Motivação em alcoolistas tratados em ambulatório específico para alcoolismo e em ambulatório de gastroenterologia – dados do. 1999.

FIGLIE, Neliana Buzi *et al.* The frequency of smoking and problem drinking among general hospital inpatients in Brazil-using the AUDIT and Fagerström questionnaires. **Sao Paulo medical journal**, v. 118, n. 5, p. 139-143, 2000.

FIGLIE, Neliana Buzi *et al.* Filhos de dependentes químicos com fatores de risco biopsicossociais: necessitam de um olhar especial. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 31, n. 2, p. 53-62, 2004.

FILIZOLA, C. L. A.; PERÓN, C. J.; NASCIMENTO M. M. A. Compreendendo o alcoolismo na família. Esc. Anna Nery, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 660-670, dez. 2006.

FONTES, Andrezza; FIGLIE, Neliana Buzi; LARANJEIRA, Ronaldo. O comportamento de beber entre dependentes de álcool: estudo de seguimento. **Revista de psiquiatria clínica**, v. 33, n. 6, p. 304-312, 2006.

FOTIN, Regina Maria Pereira; LIBRE, Andrea Temponi; MELLO, Marcelo Feijó de. Estudo da morbidade do alcoolismo na Santa Casa de Sao Paulo. **Rev. ABP-APAL**, v. 17, n. 2, p. 67-71, 1995.

FREITAS, Rivelilson Mendes; DA SILVA, Helen Rute Rodrigues; ARAÚJO, Diego Santos. Results of monitoring of users treated in the psychosocial care center-alcohol ad drugs (CAPS-AD). **SMAD Revista Electronica Salud Mental, Alcohol y Drogas**, v. 8, n. 2, 2012.

LARANJEIRA, Ronaldo *et al.* II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD II) - Consumo de Álcool no Brasil: Tendências entre 2006/2012. INPAD, São Paulo. Available in: http://inpad.org.br/wpcontent/uploads/2013/04/LENAD_ALCOOL_Resultados-Preliminares.pdf. Accessed, v. 3, 2013.

LIMA, Carlos Tadeu *et al.* Concurrent and construct validity of the AUDIT in an urban Brazilian sample. **Alcohol and Alcoholism**, v. 40, n. 6, p. 584-589, 2005.

MCCONNAUGHY, Eileen A.; PROCHASKA, James O.; VELICER, Wayne F. Stages of change in psychotherapy: Measurement and sample profiles. **Psychotherapy: Theory, Research & Practice**, v. 20, n. 3, p. 368, 1983.

MELONI, José Nino; LARANJEIRA, Ronaldo. Custo social e de saúde do consumo do álcool. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 26, p. 7-10, 2004.

MONTEIRO, Claudete FS *et al.* Perfil sociodemográfico e adesão ao tratamento de dependentes de álcool em CAPS-ad do Piauí. **Esc Anna Nery Rev Enferm**, v. 15, n. 1, p. 90-5, 2011.

PEIXOTO, Clayton *et al.* Impacto do perfil clínico e sociodemográfico na adesão ao tratamento de pacientes de um Centro de Atenção Psicossocial a Usuários de Álcool e Drogas (CAPSad). **J Bras Psiquiatr**, v. 59, n. 4, p. 317-21, 2010.

PROCHASKA, James. O. Systems of psychotherapy: A transtheoretical analysis. Homewood, IL: Dorsey Press, 1979.

PROCHASKA, James O.; DICLEMENTE, Carlo C. Transtheoretical therapy: Toward a more integrative model of change. **Psychotherapy: Theory, Research & Practice**, v. 19, n. 3, p. 276, 1982.

PROCHASKA, James O.; DICLEMENTE, Carlo C. The transtheoretical approach: Crossing traditional boundaries of therapy. **Krieger Pub.**, 1994.

RESENDE, Geraldo LO *et al.* Análise da prontidão para o tratamento em alcoolistas em um centro de tratamento. **Revista de psiquiatria Clínica**, v. 32, n. 4, p. 211-217, 2005.

SEIBEL, S. D. Conceitos básicos e classificação geral das substâncias psicoativas. In: S. D. SEIBEL. Dependência de drogas. (2ª ed.) pp. 3-10. São Paulo: Atheneu, 2010.

SIQUEIRA, Marluce Miguel de; GARCIA, Maria Lúcia Teixeira; SOUZA, Renata Santos de. O impacto das faltas às consultas em um programa de dependentes de álcool. **J. bras. psiquiatr**, v. 54, n. 2, p. 114-119, 2005.

SOUZA, Gardênia Machado. Perfil de usuários atendidos no centro de atenção psicossocial álcool e drogas: possíveis relações entre comorbidades e álcool. *Revista Interdisciplinar NOVAFAPI*, Teresina. v. 5, n. 2, p. 9-14, Abr-Mai-Jun. 2012.

SOUZA, Patrícia Fonseca *et al.* Dependentes químicos em tratamento: um estudo sobre a motivação para mudança. **Temas em Psicologia**, v. 21, n. 1, p. 259-268, 2013.

VELHO, Sérgio Ricardo Belon da Rocha. Perfil epidemiológico dos usuários de substâncias psicoativas atendidos no CAPS AD, Londrina, PR. 2010. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

READINESS FOR BEHAVIOR CHANGE IN ALCOHOLICS: A FOLLOW-UP STUDY

ABSTRACT - Introduction: the readiness for change, expressed as a willingness to enter into a personal process of adopting a new behavior, can be associated with adherence to treatment of alcoholics. Objective: Knowing the clinical characteristics related to readiness for alcoholics to remain in treatment. Method: this is an analytical, longitudinal and of follow-up study with non-probabilistic intentional sampling, conducted with 41 alcohol dependents in treatment in two Psychosocial Centers for Alcohol and other Drugs (CAPSad) in the metropolitan area of João Pessoa/PB. Result: the public was comprised mostly of males, mean age 44 years, low education, economic classification Brazil C1 and C2, unemployed, and with nearly 24 years of alcohol consumption. Regarding the motivational stage, most patients (53.66 %) was in a state of pré-contemplation, in which individuals do not see the change as necessary, and only seven subjects reached the end of the three months of research regular treatment. Conclusion: the data demonstrate the importance of identifying modification of factors of motivational aspects in therapeutic projects better suited to the individual therapeutic needs.

KEYWORDS: Alcoholism; Motivation; Motivational interviewing.

COMORBIDADES PSIQUIÁTRICAS EM EPILEPSIA

José Augusto Bragatti

lattes.cnpq.br/8397700489355897

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS

1. INTRODUÇÃO

A associação entre epilepsia e transtornos psiquiátricos tem sido descrita desde o início da prática da Neurologia e da Psiquiatria, com vários exemplos na literatura. Hipócrates, por volta do ano 400 AC, observou uma dicotomia entre epilepsia e melancolia, propondo que estas entidades estariam ligadas por um provável mecanismo fisiopatológico comum (MAGUIRE, *in press*).

A história da interface entre epilepsia e psiquiatria teve seu início marcado pela associação empírica destas condições com deuses, bruxas, demônios e fenômenos sobrenaturais. Os gregos referiam-se à epilepsia como a “doença sagrada”. Nesta época, Hipócrates supôs que o ataque de fúria que motivou Hércules a matar seus filhos tinha uma origem epiléptica. Os romanos referiam-se à epilepsia como “morbidus lunaticus”, relacionando-a com as diferentes fases da lua. No mundo árabe, a associação entre epilepsia, doença

mental e demônios persistiu, e profetas como Maomé e São Paulo, que, dizia-se, periodicamente ouviam vozes e caíam ao solo, supostamente sofriam de epilepsia (REYNOLDS e KINNIER-WILSON, 2008).

Nos séculos XIX e início do XX, epilepsia era um diagnóstico comum em asilos de pacientes com doença mental. Os pacientes mais graves eram tratados por psiquiatras, enquanto os menos graves permaneciam na comunidade, onde eram tratados por clínicos gerais ou por neurologistas (NADKARNI *et al.*, 2007).

As observações de Emil Kraepelin, na década de 1920, são consideradas a base da classificação diagnóstica psiquiátrica moderna. Kraepelin descreveu precisamente as alterações afetivas dos pacientes com epilepsia antes da era da terapia anticonvulsivante. Episódios disfóricos, caracterizados por irritabilidade, com ou sem ataques de fúria, segundo ele, representavam o transtorno psiquiátrico mais comum da epilepsia. Depressão, ansiedade, cefaleia e insônia frequentemente completavam o quadro clínico, enquanto humor eufórico era menos comum (BLUMER, 2008).

Heinrich Landolt identificou diferentes tipos de episódios psicóticos e suas relações com crises epiléticas e o eletroencefalograma (EEG), introduzindo o conceito de “Normalização Forçada” (LANDOLT, 1953). Na década seguinte, Tellenbach, aplicando os conceitos de seu antecessor a aspectos puramente clínicos, chamou de “Psicose Alternante” as manifestações mentais alternadas com as crises desses pacientes. Finalmente, em 1991, observando que uma das facetas desse fenômeno, apesar da normalização do EEG, era uma deterioração do quadro clínico, Wolf propôs o termo “Normalização Paradoxal” (CALLE-LÓPEZ *et al.*, 2019).

Mais recentemente, a introdução de técnicas avançadas de neuroimagem, como a tomografia por emissão de positrons (PET), a ressonância magnética funcional do encéfalo acoplada ao EEG (EEG/RMf), e a espectroscopia, combinadas a modelos animais e testes comportamentais refinados, tornou possível a identificação de mecanismos fisiopatológicos comuns às epilepsias (principalmente a do lobo temporal) e transtornos psiquiátricos, sobretudo a depressão maior (BRAGATTI, 2021).

2. EPIDEMIOLOGIA

Há poucos estudos sobre prevalência de condições psiquiátricas em pacientes com epilepsia na população geral. A maioria dos estudos envolve populações específicas de pacientes, em centros de atenção terciária em epilepsia. Em torno de 30% de pessoas com epilepsia recém-diagnosticada, e 50% de pacientes com epilepsia fármaco-resistente, apresentam problemas psiquiátricos, comportamentais, cognitivos e sociais (TOLCHIN *et al.*, 2020).

Recentemente, Tellez-Zenteno e colaboradores (2007), utilizando dados do Registro de Saúde Comunitária Canadense e aplicando o CIDI (*Composite International Diagnostic Interview*), encontraram uma prevalência de 35% de transtornos psiquiátricos ao longo da vida em pacientes epiléticos, comparados a 20% em indivíduos não epiléticos (TELLEZ-ZENTENO *et al.*, 2007).

A grande variabilidade de resultados obtidos tem sido atribuída a diferenças de metodologias empregadas e de populações estudadas. É sabido que psicopatologias psiquiátricas podem estar superestimadas em populações selecionadas, como nos pacientes com epilepsia do lobo temporal (ELT), ou naqueles com crises refratárias, onde a prevalência de transtornos mentais pode chegar a 75% (LU *et al.*, 2021).

3. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO PSIQUIÁTRICA

Os métodos de avaliação psiquiátrica dividem-se em entrevistas estruturadas e questionários auto aplicáveis (JONES *et al.*, 2005). As entrevistas não estruturadas vêm sendo progressivamente abandonadas nos últimos anos pelo fato das entrevistas estruturadas possuírem maior precisão diagnóstica. As entrevistas estruturadas constituem-se numa

lista de perguntas chaves, que visam preencher critérios bem definidos de diagnósticos contemplados no Manual Diagnóstico e Estatístico das Doenças Mentais (DSM-IV). Os mais utilizados são a Entrevista Clínica Estruturada para o DSM-IV (*SCID*) (FIRST, 2001) e a Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional (*MINI*) (SHEEHAN *et al.*, 1998). Questionários auto aplicados, como o Inventário de Depressão de Beck (*BDI*) (BECK *et al.*, 1996), e a Escala de Depressão do Centro para Estudos Epidemiológicos (*CES-D*) (RADLOFF, 1977), em geral são menos extensos e baseiam-se em critérios subjetivos. Os resultados obtidos com testes auto aplicados tendem a superestimar as prevalências dos transtornos psiquiátricos.

De qualquer forma, os estudos de prevalência de transtornos psiquiátricos ao longo da vida em pacientes com epilepsia apontam para índices superiores àqueles encontrados na população geral (30-50% x 10-20%) (TOLCHIN *et al.*, 2020).

4. FATORES DE RISCO

Pacientes com ELT têm um risco aumentado para a presença de transtornos psiquiátricos, quando comparados a pacientes com epilepsias focais extra temporais, ou generalizadas genéticas, e outras doenças crônicas (LU *et al.*, 2021). No entanto, ainda é controverso se pacientes com ELT apresentam risco aumentado de desenvolver transtornos mentais, quando comparados a pacientes com outros tipos de epilepsia. Dois importantes estudos não encontraram diferenças de risco entre pacientes com ELT, epilepsias focais extra temporais e generalizadas genéticas (MANCHANDA *et al.*, 1992; SWINKELS *et al.*, 2001). É possível que a prevalência aumentada de transtornos psiquiátricos em pacientes com ELT represente simplesmente a frequência aumentada da ELT em relação às outras epilepsias (LAMBERT e ROBERTSON, 1999).

É plausível supor que os mesmos circuitos neuronais envolvidos na fisiopatologia da ELT sejam também responsáveis pela produção de sintomas psiquiátricos (MAGUIRE, *in press*). Os mecanismos propostos podem ser divididos, arbitrariamente, em causas clínicas, biológicas e ambientais. São apontados como fatores clínicos: (1) o número de crises epiléticas ocorridas desde o início da doença (diretamente relacionado à idade de início e ao tempo de duração da epilepsia); (2) o efeito das medicações utilizadas no tratamento da epilepsia; (3) a lateralidade do foco irritativo (hemisfério dominante x não dominante); (4) o gênero e (5) a história familiar psiquiátrica (SWINKELS *et al.*, 2005).

Fatores biológicos dizem respeito a alterações químicas e estruturais envolvendo as redes neuronais do Sistema Límbico, particularmente amígdala e hipocampo, sede do processamento do comportamento e das emoções (MULA *et al.*, 2021). Os fatores ambientais possivelmente envolvidos na produção de comorbidades psiquiátricas em epilepsia incluem

a perda da independência, o estigma social, bem como as limitações legais (ex.: licença para dirigir veículos) e financeiras (DE BOER *et al.*, 2008). Num estudo prospectivo realizado na Universidade de Nova Iorque, Boylan e colaboradores avaliaram o impacto de diversas variáveis clínicas sobre a qualidade de vida em pacientes com epilepsia refratária, internados para a realização de vídeo-EEG. Presença de depressão, avaliada através do BDI, foi o único fator preditivo para índices baixos obtidos no Questionário sobre Qualidade de Vida em Epilepsia (QOLIE-31). Frequência de crises, localização da crise, idade, gênero, situação marital, duração e tipo de crise, e número de medicações anticrise (MAC) utilizadas não foram preditores de qualidade de vida, nesse estudo (BOYLAN *et al.*, 2004).

Pacientes com epilepsia têm um risco de suicídio significativamente maior do que a população geral (HECIMOVIĆ *et al.*, *in press*). Dois grandes estudos, realizados no Canadá (TELLEZ-ZENTENO *et al.*, 2007) e na Dinamarca (CHRISTENSEN *et al.*, 2007), demonstraram que o risco de suicídio é 2 a 3 vezes maior em pacientes epiléticos quando comparados com indivíduos controles. O estudo dinamarquês encontrou um risco de suicídio ainda maior entre indivíduos com epilepsia e portadores de transtorno de humor com ansiedade associados.

5. TRANSTORNOS PSIQUIÁTRICOS ESPECÍFICOS

5.1 Transtornos de Humor

Especificamente para depressão em epilepsia, têm sido estudados fatores de risco neurobiológicos: (1) lateralidade do foco de crise; (2) hipometabolismo frontal; e (3) volume do hipocampo.

Com relação à lateralidade do foco, Hurwitz *et al.* (1985) encontraram associação entre crises epiléticas iniciadas no hemisfério esquerdo e humor depressivo; neste estudo, crises originadas no hemisfério direito acompanharam-se de risos e comportamento sedutor. Como a atividade de crise num hemisfério possivelmente “libere” o hemisfério contralateral, os autores postularam que o hemisfério dominante seria responsável por estados emocionais negativos, e o hemisfério não dominante produziria um efeito oposto. Outra teoria postula que uma atividade de crise no hemisfério não dominante poderia resultar em negligência das emoções negativas (LAMBERT *et al.*, 1999). Alguns estudos controlados comparando foco de crise com graus de depressão encontraram frequências aumentadas de depressão com foco no hemisfério esquerdo, independentemente do tipo de crise (ALTSHULER *et al.*, 1990; VICTOROFF *et al.*, 1994), enquanto outros estudos não confirmaram esta correlação (HELMSTAEDTER *et al.*, 2004). Uma complexa interação entre vários fatores deve estar implicada nesta associação.

Recentes trabalhos utilizando PET e SPECT cerebrais

têm demonstrado uma associação entre epilepsia e disfunção com hipometabolismo do lobo frontal. Bromfield e colaboradores (1992) estudaram 23 pacientes com crises parciais complexas, candidatos a cirurgia, quanto a manifestações depressivas (BDI>11), comparando-os a controles normais. Os pacientes com foco temporal à esquerda tiveram mais manifestações depressivas, e apresentaram um hipometabolismo frontal inferior bilateral. Victoroff *et al.* (1994), também estudando uma população de 53 epiléticos candidatos a tratamento cirúrgico, encontraram que um início de crise à esquerda associa-se a uma frequência maior de depressão (79% x 50%, não significativa). Não foi encontrada nenhuma correlação entre o estado afetivo corrente e o metabolismo nos lobos frontais, porém, foi interessante observar que uma história de depressão (identificada pelo SCID) correlacionou-se significativamente a um hipometabolismo do lobo frontal esquerdo. Hermann *et al.* (1991) não encontraram correlação entre humor e lateralidade, porém um foco localizado à esquerda esteve significativamente associado ao grau de disfunção frontal (avaliada pelo *Wisconsin Card Sort Test*) e disforia. Ao contrário, um foco à direita foi inversamente associado ao grau de disfunção frontal e disforia (resultados não significativos).

Poucos estudos avaliaram a associação entre perda de volume hipocampal, depressão e epilepsia. Quiske e colaboradores (2000) encontraram maiores escores de BDI em pacientes com ELT e esclerose temporal mesial, quando comparados a pacientes com RMN normal. Outro estudo identificou uma associação de escores maiores para depressão com maiores volumes de hipocampo esquerdo em pacientes com esclerose hipocampal direita (BAXENDALE *et al.*, 2005). Também estudos com PET cerebral demonstraram uma associação entre maiores escores de depressão em pacientes com epilepsia com alterações metabólicas nos lobos temporais em relação a pacientes com PET normal (GILLIAM *et al.*, 2004).

Um tema importante, ao tratarmos de transtornos de humor em pacientes com epilepsia, é a questão sobre até que ponto o transtorno epilético modifica a expressão clínica da Depressão e outros transtornos afetivos. Psiquiatras pré-modernos, como Kraepelin e Bleuler, observaram que os pacientes com epilepsia podiam desenvolver um transtorno de humor caracterizado por um padrão pleomórfico de sintomas, como depressão misturada com euforia, irritabilidade, medo e ansiedade, bem como anergia, dor e insônia. Este conceito foi revitalizado durante o Século XX por Blumer (2000), que cunhou o termo Transtorno Disfórico Interictal (TDI) para nomear esse tipo de transtorno somatoforme-depressivo, hipotetizado como típico em pacientes com epilepsia. Porém, esta condição não é específica para a epilepsia (MULA *et al.*, 2008), apesar de que uma série de características atípicas e pleomórficas desta condição estão relacionadas com sintomas perictais (MULA *et al.*, 2010) que, na verdade, são típicos apenas de pacientes com epilepsia. Esta questão tem relevantes implicações em termos de prognóstico e tratamento. Por um lado, enfatiza a necessidade de dissecar as

manifestações peri-ictais das interictais, sendo as primeiras relacionadas ao prognóstico e tratamento da síndrome epiléptica. Por outro lado, a presença de instabilidade de humor como um elemento essencial do TDI sugere a necessidade de prescrever DAE estabilizadoras do humor como o tratamento de escolha, e o uso de drogas antipsicóticas em casos selecionados.

5.2 Transtornos de Ansiedade

Os principais tipos de transtorno de ansiedade descritos no DSM-IV são: (1) transtorno de ansiedade generalizada (TAG); (2) transtorno do pânico; (3) fobia; e (4) transtorno obsessivo compulsivo. Os fatores de risco estudados para ansiedade e epilepsia são: (1) frequência de crises; (2) tratamento cirúrgico para a epilepsia; (3) idade; (4) tipo de crise; e (5) percepção do estigma (HINGRAY *et al.*, 2019).

A frequência de crises foi associada à ansiedade em alguns trabalhos, mas não em todos (CHOI-KWON *et al.*, 2003). Estudos com PET cerebral associado a dados eletrofisiológicos apontam para o lobo temporal direito como a principal estrutura responsável na fisiopatologia da ansiedade em epilepsia (HARDEN *et al.*, 2007). Parece que, mais do que a frequência das crises, o medo de queda ou de morte é que se constitui num fator crítico para o desenvolvimento da ansiedade nos pacientes com epilepsia. O tratamento cirúrgico para a epilepsia pode aumentar os sintomas de ansiedade, quando há redução de crises pós-cirúrgica em mais de 75% (MALMGREN *et al.*, 1997).

Quanto à idade do paciente, efeitos mínimos foram observados, podendo um início tardio de epilepsia estar associado a maiores níveis de ansiedade (BAKER *et al.*, 2001). O risco de ansiedade parece ser maior nas epilepsias focais (especialmente ELT) do que nas generalizadas (PIAZZINI *et al.*, 2001). Índices mais altos de ansiedade foram encontrados em pacientes refratários ao tratamento clínico (HINGRAY *et al.*, 2019). Um importante fator ligado à ansiedade em epiléticos é a percepção do estigma (JACOBY *et al.*, 2005) e este fator é maior em pacientes jovens (HARDEN *et al.*, 2007).

A co-ocorrência de transtornos depressivos e de ansiedade também é relativamente frequente em pacientes com epilepsia. Por exemplo, em um estudo de base populacional, a taxa de prevalência de transtornos de ansiedade encontrada foi 22,8% dos pacientes com epilepsia, contra 11% em indivíduos sem epilepsia, enquanto uma taxa de 34% foi encontrada para a coexistência de ansiedade e transtornos depressivos (TELLEZ-ZENTENO *et al.*, 2007). Transtornos de ansiedade são também relativamente frequentes em pacientes tratados em centros especializados de epilepsia. Em um estudo de 188 pacientes consecutivos, de cinco centros de epilepsia dos EUA (50% dos quais livres de crises nos últimos seis meses), 83 apresentavam uma comorbidade psiquiátrica. Distúrbios de ansiedade no momento do estudo foram identificados em 49 pacientes (26%). Desses 49 pacientes, 28 tinham

coexistência entre ansiedade e transtornos depressivos; 27 pacientes (14,4%) tinham dois ou mais transtornos de ansiedade (KANNER *et al.*, 2010).

5.3 Transtornos Psicóticos

Os transtornos psicóticos encontrados em pacientes com epilepsia são divididos de acordo com a relação temporal de manifestação dos sintomas psicóticos com as manifestações de crise do paciente. Assim, as psicoses em pacientes epiléticos podem ser ictais, pós-ictais ou interictais. A literatura a respeito de fatores de risco para psicose em epilepsia é altamente controversa, e a maioria dos estudos se restringem às psicoses interictais (SCHMITZ e TRIMBLE, 2008). Mais recentemente, Mula e Monaco (2011) introduziram o conceito de sintomas para-ictais, que ocorrem principalmente (mas não exclusivamente), em pacientes com crises epiléticas controladas, e são a base fisiopatológica da Normalização Forçada (LANDOLT, 1953).

Com relação à duração da epilepsia, o intervalo entre o início da epilepsia e a primeira manifestação de psicose, na maioria das séries, encontra-se em torno de 11 a 15 anos, suscitando um significado etiológico para o transtorno epilético, através de um mecanismo de tipo *kindling* (ADAMEC, 1990). A ELT é a epilepsia com maior associação com psicose, em quase todas as séries de casos. Numa revisão não sistemática de 10 estudos, 76% dos pacientes com psicose tinham também ELT (KANEMOTO, no prelo). No entanto, a maior crítica feita a estes estudos é que os seus resultados podem estar simplesmente refletindo a maior prevalência de ELT na população geral. Um dos fatores de risco mais fortes para psicose em epilepsia é a severidade da epilepsia, representada pela duração, múltiplos tipos de crise, história de estado epilético e pouca resposta clínica ao tratamento (KANEMOTO, no prelo). Flor-Henry (1969) sugeriu originalmente que disfunção do lobo temporal esquerdo é fator de risco para psicose esquizofreniforme. Uma análise de 14 estudos com 341 pacientes com ELT encontrou que 43% tinham foco à esquerda, 23% à direita, e 34% alterações bilaterais. Estes achados de lateralidade foram apoiados por estudos de neuroimagem, especialmente SPECT e RMN. Mellers *et al.* (1998), utilizando um paradigma de ativação de fluência verbal e SPECT, comparou pacientes com psicose da epilepsia (n = 12), com esquizofrenia (n = 11), e pacientes com epilepsia e não psicóticos (n = 16). Os pacientes psicóticos apresentaram um maior fluxo sanguíneo no giro temporal superior, durante a ativação, em relação aos demais grupos. Já Maier *et al.* (2000), compararam os volumes amígdalo-hipocampais e o N-acetil aspartato (NAA) hipocampal (por espectroscopia) de pacientes com ELT, com (n = 12) e sem psicose (n = 12), esquizofrênicos sem epilepsia (n = 26), e indivíduos normais (n = 38). Os pacientes psicóticos apresentaram significativa redução do NAA no LT esquerdo, e este fenômeno foi mais acentuado em pacientes com epilepsia. Pacientes com epilepsia apresentaram reduções de volume bilaterais, enquanto os psicóticos tiveram uma atrofia mais acentuada no complexo amígdalo-hipocampal esquerdo.

A psicose interictal parece ser diferente da esquizofrenia, principalmente por cursar com mais sintomas afetivos e por ter um melhor prognóstico. Enquanto alterações hipocâmpais podem estar relacionadas a ambos os transtornos, o aumento bilateral das amígdalas (com menores alterações volumétricas dos hipocâmpos) é característico da psicose interictal, sugerindo que ambos são biologicamente muito distintos. Esta hipótese é apoiada num estudo recente, com 26 pacientes com psicose epiléptica, 24 com ELT e sem psicose, e 20 controles normais. Os pacientes psicóticos tiveram aumentos significativos, bilaterais, das amígdalas, comparados aos outros grupos. Os achados não se correlacionaram com a lateralidade do foco, nem com o tempo de duração da epilepsia do paciente (TEBARTZ *et al.*, 2002).

5.4 Abuso de Álcool e Outras Substâncias

A síndrome da dependência do álcool é definida como um conjunto de fenômenos fisiológicos, comportamentais e cognitivos nos quais a utilização de álcool assume uma prioridade muito mais elevada para um dado indivíduo que outros comportamentos que antes tinham maior valor. Ela está associada com uma vasta gama de doenças orgânicas, mentais e sociais, e a custos econômicos e sociais enormes. A prevalência da dependência de álcool entre a população adulta varia entre 2 e 12% nas populações da Europa Ocidental e da América do Norte (WHO, 2011). Num estudo transversal, a prevalência de abuso de álcool na zona urbana do município de Rio Grande (RS), em indivíduos de 12 a 75 anos de idade, foi de 5,5%. A dependência de álcool na população estudada foi de 2,5% (PRIMO e STEIN, 2004).

Os critérios de diagnóstico variam entre sintomas físicos e psicológicos. Como exemplo, os critérios de diagnóstico do DSM-IV são: tolerância, sintomas de abstinência ou o uso de alcoóis para evitar ou aliviar sintomas de abstinência, beber mais do que o pretendido, tentativas sem sucesso de reduzir o uso, tempo excessivo dispendido ao álcool (obtenção, ressaca), atividades sociais ou de trabalho prejudicadas pelo uso de álcool, e uso continuado apesar de consequências físicas ou psicológicas (WHO, 1992)

Abuso/dependência de álcool é mediada por mecanismos neurais complexos que envolvem o múltiplos circuitos do cérebro, e alterações neuroadaptativas, em uma variedade de sistemas de neurotransmissores e neuropeptídeos. Embora estudos recentes têm fornecido informações substanciais sobre os mecanismos neurobiológicos que impulsionam o comportamento de beber álcool, persistem desafios significativos na compreensão de como neuroadaptações induzidas pelo álcool ocorrem e como diferentes circuitos neurais interagem entre si (CUI *et al.*, 2013).

Os estudos genéticos sobre o alcoolismo têm examinado o metabolismo do álcool, e os sistemas neurotransmissores dopaminérgicos,

GABAérgicos, glutamatérgicos, opióides, colinérgicos e serotoninérgicos, bem como o neuropeptídeo Y (KÖHNKE, 2008). O papel do gene do transportador de serotonina no diagnóstico de alcoolismo continua a ser controverso. O número de estudos sobre os genes de receptores da serotonina também é muito limitado, e com resultados controversos (DICK e FOROUD, 2003).

Uma recente meta-análise revelou uma forte e consistente associação entre consumo de álcool e epilepsia (risco relativo: 2,19) (SAMOKHVALOV *et al.*, 2010). O consumo crônico de álcool tem diversos efeitos sobre o sistema nervoso central, afetando sua estrutura e funcionamento de várias maneiras: o álcool promove o desenvolvimento de atrofia cerebral, além do que outras alterações estruturais, tais como infartos cerebrovasculares, lesões e traumatismos cranianos, foram mais prevalentes em usuários pesados de álcool e pessoas com dependência ao álcool, tendo sido diretamente relacionados a crises epilépticas repetidas em vários estudos (RATHLEV *et al.*, 2006).

O álcool tem diversos efeitos agudos e crônicos sobre o metabolismo e a função cerebrais, que já foram amplamente estudados (LEACH *et al.*, 2012). No entanto, estudos genéticos de associação entre alcoolismo e outras doenças neurológicas, em especial epilepsia, são escassos na literatura (DICK e FOROUD, 2003).

6. RELAÇÃO BIDIRECIONAL

Está demonstrado que alguns transtornos afetivos e comportamentais específicos podem apresentar uma relação bidirecional com o início de crises epilépticas, ou seja, um diagnóstico psiquiátrico pode anteceder o início de crises em três situações: depressão maior, ideação suicida e transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH).

Tanto em estudos de caso-controle (AUSTIN *et al.*, 2001), quanto em estudos longitudinais em crianças (HESDORFFER *et al.*, 2004), foi encontrado um risco aumentado de 2,5 vezes em pacientes com diagnóstico de TDAH sofrerem uma primeira crise epiléptica.

Três estudos controlados avaliaram a relação temporal entre depressão e epilepsia. Um estudo de caso-controle, baseado na população geral, encontrou um risco sete vezes aumentado de um adulto com depressão desenvolver epilepsia, em relação aos indivíduos controles. Nas epilepsias focais, este risco aumenta para 17 vezes (FORSGREN e NYSTROM, 1990). Hesdorffer *et al.* (2000) encontraram a mesma relação temporal entre depressão e primeira crise, com um risco 6 vezes maior. Os dados destes dois estudos foram confirmados num estudo controlado, baseado na população geral, realizado na Islândia, com 324 pacientes acima de 10 de anos de idade, com uma primeira crise não provocada ou epilepsia recém-diagnosticada, e 647 controles: depressão maior, diagnosticada segundo os critérios do DSM-IV, aumentou o risco para epilepsia em 1,7 vezes. Este

mesmo estudo demonstrou que uma tentativa de suicídio está associada com um risco aumentado em 3,5 vezes para epilepsia (HESDORFFER *et al.*, 2006).

7. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS COMUNS

Esta relação de bidirecionalidade sugere uma susceptibilidade subjacente comum à epilepsia e a transtornos afetivos. Dados ligando as duas doenças envolvem níveis molecular, celular e regional no cérebro (KONDZIELLA *et al.*, 2007). Estes mecanismos são fortemente interligados, e as alterações funcionais e estruturais de uma doença podem desencadear a outra.

7.1 Modelos animais

Um dos mais bem estudados modelos de ELT usa substâncias convulsivantes, como cainato e pilocarpina, injetadas, em geral, de forma sistêmica. Após provocar um estado de mal epiléptico no animal, segue-se, no modelo, um período de latência de algumas semanas, após o qual se desenvolvem crises espontâneas (COULTER *et al.*, 2002). Outro modelo experimental utilizado é o *kindling* elétrico. No entanto, este método não parece reproduzir os eventos fisiopatológicos da ELT tão fidedignamente quanto o método farmacológico, pois as crises não ocorrem espontaneamente, não se desenvolve uma esclerose hipocampal, e não há um período de latência entre o insulto precipitante inicial e o desenvolvimento das crises.

Recentemente, Mazarati *et al.* (2007) investigaram se um aumento crônico da suscetibilidade a crises induzida por *kindling* resultava num comportamento depressivo em ratos. Duas a quatro semanas após a aplicação de 84 estímulos elétricos (a cada cinco minutos) subconvulsivantes no hipocampo ventral de ratos Wistar adultos, os investigadores aplicaram dois testes: o teste do nado forçado (TNF), e o teste da gustação (preferência por açúcar). Uma imobilidade no tanque, no TNF, é equivalente à depressão, pois o animal não demonstra nenhuma iniciativa de fuga de uma situação de estresse. O segundo teste tenta reproduzir a perda da habilidade da busca pelo prazer, frequente na depressão. O estudo demonstrou que os ratos submetidos ao *kindling* exibiam um aumento significativo do tempo de imobilidade no TNF, associado a perda da preferência por gosto adocicado, quando comparados aos controles. Os autores concluíram que as alterações de plasticidade neuronal causadas pelo *kindling* são acompanhadas por um comportamento depressivo.

O papel dos neurotransmissores no mecanismo fisiopatogênico dos transtornos afetivos é reconhecido desde há algumas décadas (SCHILDKRAUT, 1965). Os papéis do ácido gama-aminobutírico (GABA) e do glutamato na epileptogênese já foram demonstrados em inúmeros estudos com animais e em humanos. O Rato Geneticamente Predisposto

à Epilepsia (GEPR) proporciona um modelo experimental tanto para epilepsia quanto para depressão. Neste modelo, os animais portadores da mutação são altamente sensíveis a estímulos auditivos, aos quais eles respondem com crises tônico-clônicas generalizadas (TCG). Além disto, os GEPRs apresentam alterações endocrinológicas semelhantes àquelas identificadas em pacientes com depressão maior: níveis séricos elevados de corticosteróides, secreção diminuída do hormônio do crescimento, e hipotireoidismo. Arborizações deficientes dos circuitos noradrenérgicos e serotoninérgicos foram demonstrados nestes animais. Um aumento dos níveis destes neurotransmissores pode prevenir a ocorrência de crises, enquanto reduções têm o efeito oposto (JOBE e WEBER, 2006). Um estudo clássico demonstrou que a fluoxetina, um inibidor seletivo da recaptação sináptica da serotonina, provocou uma redução dose-dependente da frequência de crises em GEPRs, que se correlacionou com a concentração serotoninérgica talâmica extracelular (YAN *et al.*, 1993).

7.2 Estudos em humanos

Transmissão serotoninérgica anormal foi demonstrada no cérebro de pacientes deprimidos (MALISON *et al.*, 1998), mesmo achado encontrado nos estudos com PET, em pacientes com ELT (SARGENT *et al.*, 2000). Num estudo mais recente, Hasler *et al.* (2007) compararam o nível de ligação dos receptores 5-HT_{1A} a um antagonista específico, em 37 pacientes com ELT, com e sem depressão maior (diagnóstico por SCID), utilizando PET. Além de uma diminuição da ligação aos receptores 5-HT_{1A} no foco epilético, os pacientes com depressão maior exibiam uma redução da ligação mais extensa, envolvendo áreas não límbicas, distantes do foco epilético.

8. CONCLUSÕES

Considerando que comorbidades psiquiátricas têm impacto direto no prognóstico de pacientes epiléticos, influenciando o controle farmacológico e cirúrgico de crises, e aumentando a mortalidade, é fundamental a identificação destas variáveis clínicas durante a avaliação diagnóstica dos pacientes com epilepsia. Acima de tudo, as imbricações entre o fenômeno epilético e os transtornos mentais aproximam Neurologia e Psiquiatria em torno mecanismos fisiopatológicos comuns a ambos.

REFERÊNCIAS

- Adamec, R.E. (1990). Does kindling model anything clinically relevant? *Biol Psychiat* 27, 249-279. DOI: 10.1016/0006-3223(90)90001-i.
- Altshuler LL, Devinsky O, Post RM. (1990). Depression, anxiety and temporal lobe epilepsy. *Arch Neurol* 47: 282-8. doi: 10.1001/archneur.1990.00530030050016.

Austin JK, Harezlak J, Dunn DW, et al. (2001). Behavior problems in children before first recognized seizures. *Pediatrics* 107: 115-22. doi: 10.1542/peds.107.1.115.

Baker GA, Jacoby A, Buck D, et al. (2001). The quality of life of older people with epilepsy: findings from a U.K. community study. *Seizure* 10: 92-9. Doi: 10.1111/j.1528-1157.1998.tb01164.x.

Baxendale SA, Thompson PJ, Duncan JS. (2005). Epilepsy and depression: the effects of comorbidity on hippocampal volume – a pilot study. *Seizure* 14: 435-8. doi: 10.1016/j.seizure.2005.07.003.

Beck AT, Steer RA, Brown, GK. Beck Depression Inventory Manual—2nd Edition. San Antonio: The Psychological Corporation, 1996.

Blumer D. (2000). Dysphoric disorders and paroxysmal affects: recognition and treatment of epilepsy-related psychiatric disorders. *Harv Rev Psychiatry* 8: 8-17. Doi: 10.3109/hrp.8.1.8.

Blumer DP. Interictal Dysphoric Disorder. In: Behavioral Aspects of Epilepsy: principles & practice. Schachter S.C.; Holmes G.L.; Kasteleijn-Nolst Trenité D.G.A. eds. New York: Demos. 2008: 209-17.

Boylan LS, Flint LA, Labovitz DL, et al. (2004). Depression but not seizure frequency predicts quality of life in treatment-resistant epilepsy. *Neurology* 62: 258-61. doi: 10.1212/01.wnl.0000103282.62353.85.

Bragatti JA (2021) Forced Normalization Revisited: New Concepts About a Paradoxical Phenomenon. *Front Integr Neurosci* 15:736248. Doi: 10.3389/fnint.2021.736248.

Bromfield EB, Altshuler L, Leiderman DB, et al. (1992) Cerebral metabolism and depression in patients with complex partial seizures. *Arch Neurol* 49: 617-23. doi: 10.1001/archneur.1992.00530300049010.

Calle-López, Y., Ladino, L.D., Benjumea-Cuartas, V., Castrillón-Velilla, D.M., Téllez-Zenteno, J.F., and Wolf, P. (2019). Forced normalization: a systematic review. *Epilepsia* 60, 1610-1618. Doi: 10.1111/epi.276.

Choi-Kwon S, Chung C, Kim H, et al. (2003). Factors affecting the quality of life in patients with epilepsy in Seoul, South Korea. *Acta Neurol Scand* 108: 428-34. doi: 10.1046/j.1600-0404.2003.00151.x.

Christensen J, Vestergaard M, Mortensen PB, Sidenius P, Agerbo E. (2007). Epilepsy and risk of suicide: a population-based case-control study. *Lancet Neurol* 6: 666-667. doi: 10.1016/S1474-4422(07)70175-8.

Coulter D, McIntyre D, Loscher W. (2002). Animal models of limbic epilepsies: what can they tell us? *Brain Pathol* 12: 240-56. doi: 10.1111/j.1750-3639.2002.tb00439.x.

Cui C, Noronha A, Morikawa H, Alvarez VA, Stuber GD, Szumlinski KK, Kash TL, Roberto

M, Wilcox MV. (2013). New insights on neurobiological mechanisms underlying alcohol addiction. *Neuropharmacology* 67: 223-32. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.09.022.

De Boer HM, Mula M, Sander JW. (2008). The global burden and stigma of epilepsy. *Epilepsy Behav* 12: 540-6. doi: 10.1016/j.yebeh.2007.12.019.

Dick DM, Foroud T. (2003). Candidate genes for alcohol dependence: a review of genetic evidence from human studies. *Alcohol Clin Exp Res* 27: 868-79. doi: 10.1097/01.ALC.0000065436.24221.63.

First MB, Spitzer RL, Gibbon M, et al. *Structured Clinical Interview for DSM-IV – TR Axis I disorder – non patient ed.* (SCI I/NP – 2/2001 Revision). New York: Biometric Research Department; 2001.

Flor-Henry P. (1969). Psychosis and temporal lobe epilepsy: a controlled investigation. *Epilepsia* 10: 363-95.

Forsgren L, Nystrom L. (1990). An incident case-referent study of epileptic seizures in adults. *Epilepsy Res* 6: 66-81.

Gilliam FG, Santos J, Vahle V, et al. (2004). Depression in epilepsy: ignoring clinical expression of neuronal network dysfunction? *Epilepsia* 45 (Suppl. 2): 28-33. doi: 10.1111/j.0013-9580.2004.452005.x.

Harden CL, Goldstein MA, Ettinger AB. Anxiety disorders in epilepsy. In: Ettinger A.B.; Kanner A.M., eds. *Psychiatric Issues in Epilepsy: a practical guide to diagnosis and treatment*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007: 248-63.

Hasler G, Bonwetsch R, Giovacchini G, et al. (2007). 5-HT1A receptor binding in temporal lobe epilepsy patients with and without major depression. *Biol Psychiatry* 62: 1258-64. doi: 10.1016/j.biopsych.2007.02.015.

Hećimović, H., Popović, P., Gilliam, F. (in press). Suicidality in Epilepsy: Does It Share Common Pathogenic Mechanisms with Epilepsy? *Curr Top Behav Neurosci*. doi: 10.1007/7854_2021_220.

Helmstaedter C, Sonntag-Dillender M, Hoppe C, et al. (2004). Depressed mood and memory impairment in temporal lobe epilepsy as a function of focus lateralization and localization. *Epilepsy Behav* 5: 696-701. doi: 10.1016/j.yebeh.2004.06.008.

Hermann BP, Seidenberg M, Haltiner A, et al. (1991). Mood state in unilateral temporal lobe epilepsy. *Biol Psychiatry* 30: 1205-18. doi: 10.1016/0006-3223(91)90157-h.

Hesdorffer DC, Hauser WA, Annegers JF, et al. (2000). Major depression is a risk factor for seizures in older adults. *Ann Neurol* 47: 246-9. doi: 10.1002/1531-8249(200002)47:2<246::AID-ANA17>3.0.CO;2-E.

Hesdorffer DC, Ludvigsson P, Olafsson E, et al. (2004). ADHD as a risk factor for incident unprovoked seizures and epilepsy in children. *Arch Gen Psychiatry* 61: 731-6.

doi: 10.1001/archpsyc.61.7.731.

Hesdorffer DC, Hauser WA, Olafsson E, Ludvigsson P, Kjartansson O. (2006). Depression and suicide attempt as risk factors for incident unprovoked seizures. *Ann Neurol* 59: 35-41. doi: 10.1002/ana.20685.

Hingray C., McGonigal A., Kotwas I., Micoulaud-Franchi, J.A. (2019). The relationship between anxiety and epileptic disorders. *Curr Psychiatry Rep* 21: 40. doi: 10.1007/s11920-019-1029-9.

Hurwitz TA, Wada JA, Kosaka B, et al. (1985). Cerebral organization of affect suggested by temporal lobe seizures. *Neurology* 25: 1335-7. doi: 10.1212/wnl.35.9.1335.

Jacoby A, Snape D, Baker GA. (2005). Epilepsy and social identity: the stigma of a chronic neurological disorder. *Lancet Neurol* 4: 171-8. doi: 10.1016/S1474-4422(05)01014-8.

Jobe PC, Weber RH. (2006). Affective disorder and epilepsy comorbidity in the genetically epilepsy-prone rat (GEPR). In: Gilliam F.G.; Kanner A.M.; Sheline Y.I.; eds. *Depression and Brain Dysfunction*. London, UK: Taylor & Francis; 121-58.

Jones JE, Hermann B, Barry JJ, Gilliam F, Kanner AM, Meador KJ (2005). Clinical assessment of axis I psychiatric morbidity in chronic epilepsy: a multicenter investigation. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 17: 172-179. doi: 10.1176/jnp.17.2.172.

Kanemoto, K. Psychotic disorders in epilepsy: do they differ from primary psychosis? (in press) *Curr Topics Behav Neurosci* . doi: 10.1007/7854_2021_234.

Kanner AM, Barry JJ, Gilliam F, Hermann B, Meador KJ. (2010). Anxiety disorders, sub-syndromic depressive episodes and major depressive episodes: do they differ on their impact on the quality of life of patients with epilepsy? *Epilepsia* 51: 1152-8. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02582.x.

Köhnke MD. (2008). Approach to the genetics of alcoholism: a review based on pathophysiology. *Biochem Pharmacol* 75: 160-77. doi: 10.1016/j.bcp.2007.06.021.

Kondziella D, Alvestad S, Vaaler A, et al. (2007). Which clinical and experimental data link temporal lobe epilepsy with depression? *J Neurochem* 103: 2136-52. doi: 10.1111/j.1471-4159.2007.04926.x.

Lambert MV, Robertson MM. (1999). Depression in epilepsy: etiology, phenomenology, and treatment. *Epilepsia* 40 (Suppl. 10): S21-S47. doi: 10.1111/j.1528-1157.1999.tb00884.x.

Landolt H (1953). Some clinical electroencephalographical correlations in epileptic psychoses (twilight states). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 5: 121.

Leach JP, Mohanraj R, Borland W. (2012). Alcohol and drugs in epilepsy: pathophysiology, presentation, possibilities, and prevention. *Epilepsia* 53 (Suppl. 4):

48-57. doi: 10.1111/j.1528-1167.2012.03613.x.

Lu, E., Pyatka, N., Burant, C.J., Sajatovic, M. (2021) Systematic literature review of psychiatric comorbidities in adults with epilepsy. *J Clin Neurol* 17: 176-186. doi: 10.3988/jcn.2021.17.2.176.

Maier M, Mellers J, Toone B, et al. (2000). Schizophrenia, temporal lobe epilepsy and psychosis: an in vivo magnetic resonance spectroscopy and imaging study of the hippocampus/amygdala complex. *Psychol Med* 30: 571-81. doi: 10.1017/s0033291799001993.

Malison RT, Price LH, Berman R, et al. (1998). Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by[123I]-2 beta-carbomethoxy- 3 beta-(4-iodophenyl) tropane and single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry* 44: 1090-8. doi: 10.1016/s0006-3223(98)00272-8.

Malmgren K, Sullivan M, Ekstedt G, et al. (1997). Health-related quality of life after epilepsy surgery: a Swedish multi-center study. *Epilepsia* 38: 830-8. doi: 10.1111/j.1528-1157.1997.tb01471.x.

Manchanda R, Schaefer B, McLachlan R, et al. (1992) Interictal psychiatric morbidity and focus of epilepsy in treatment-refractory patients admitted to an epilepsy unit. *Am J Psychiatry* 149: 1096-8. doi: 10.1176/ajp.149.8.1096.

Maguire, J. Mechanisms of psychiatric comorbidities in epilepsy. (in press). *Curr Topics Behv Neurosci*. doi: 10.1007/7854_2020_192.

Mazarati A, Shin D, Auvin S, et al. (2007). Kindling epileptogenesis in immature rats leads to persistent depressive behavior. *Epilepsy Behav* 10: 377-83. doi: 10.1016/j.yebeh.2007.02.001.

Mellers JD, Adachi N, Takei N, et al. (1998). SPECT study of verbal fluency in schizophrenia and epilepsy. *Br J Psychiatry* 173: 69-74. doi: 10.1192/bjp.173.1.69.

Mula M, Jauch R, Cavanna A, et al. (2008). Clinical and psychopathological definition of the interictal dysphoric disorder of epilepsy. *Epilepsia* 49: 650-6. doi: 10.1111/j.1528-1167.2007.01434.x.

Mula M, Jauch R, Cavanna A, et al. (2010). Interictal dysphoric disorder and perictal dysphoric symptoms in patients with epilepsy. *Epilepsia* 51: 1139-45. doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02424.x.

Mula M, Kanner AM, Jetté N, Sander JW. (2021). Psychiatric Comorbidities in People With Epilepsy. *Neurol Clin Pract* 11(2): e112-e120. doi: 10.1212/CPJ.0000000000000874.

Mula, M. and Monaco, F. (2011). Ictal and peri-ictal psychopathology. *Behav Neurol* 24: 21-25. doi 10.3233/BEN20110314.

Nadkarni, S, Arnedo, V, Devinsky, O (2007). Psychosis in epilepsy patients. *Epilepsia*

48 (s9): 17-19. doi: 10.1111/j.1528-1167.2007.01394.x.

Piazzini A, Cavenini MP, Maggiori G, et al. (2001). Depression and anxiety in patients with epilepsy. *Epilepsy Behav* 2: 481-9. doi: 10.1006/ebeh.2001.0247.

Primo NLNP, Stein AT. (2004). Prevalência do abuso e da dependência de álcool em Rio Grande (RS): um estudo transversal de base populacional. *R Psiquiatr RS* 26: 280-6.

Quiske A, Helmstaedter C, Lux S, et al. (2000). Depression in patients with temporal lobe epilepsy is related to mesial temporal sclerosis. *Epilepsy Res* 39: 121-5. doi: 10.1016/s0920-1211(99)00117-5.

Radloff LS. (1977). The CES-D scale: a self-report depression scale for research in the general population. *J Applied Psychol Measurement* 1: 385-401.

Rathlev NK, Ulrich AS, Delanty N, D'Onofrio G. (2006). Alcohol-related seizures. *J Emerg Med* 31: 157-63. doi: 10.1016/j.jemermed.2005.09.012.

Reynolds EH, Kinnier Wilson JV (2008) Psychoses of epilepsy in Babylon: the oldest account of the disorder. *Epilepsia* 49:1488-1490. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01614.x.

Samokhvalov AV, Irving H, Mohapatra S, Rehm J. (2010). Alcohol consumption, unprovoked seizures, and epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsia* 51: 1177-84. doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02426.x.

Sargent PA., Kjaer KH, Bench CJ, et al. (2000). Brain serotonin1A receptor binding measured by positron emission tomography with.[11C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* 57: 174-80. doi: 10.1001/archpsyc.57.2.174.

Schildkraut JJ. (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 122: 509-22. doi: 10.1176/ajp.122.5.509.

Schmitz B, Trimble M. Psychosis and forced normalization. In: *Behavioral Aspects of Epilepsy: principles & practice*. Schachter S.C.; Holmes G.L.; Kasteleijn-Nolst Trenité D.G.A. Eds. New York: Demos. 2008: 235-43.

Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, et al. (1998). The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 59 (Suppl. 20): 22-33.

Swinkels WAM, Kuyk J, De Graaf EH, et al. (2001). Prevalence of psychopathology in Dutch epilepsy in patients: a comparative study. *Epilepsy Behav* 2: 441-7. doi: 10.1006/ebeh.2001.0242.

Swinkels WAM, Kuyk J, Van Dyck R, Spinhoven Ph. (2005). Psychiatric comorbidity in

epilepsy. *Epilepsy Behav* 7: 37-50. doi: 10.1016/j.yebeh.2005.04.012.

Tebartz Van Elst L, Baeumer D, Lemieux L, et al. (2002). Amygdala pathology in psychosis of epilepsy: a magnetic resonance imaging study in patients with temporal lobe epilepsy. *Brain* 125: 140-9. doi: 10.1093/brain/awf008.

Tellez-Zenteno JF, Patten SB, Jetté N, Williams J, Wiebe S. (2007). Psychiatric comorbidity in epilepsy: a population-based analysis. *Epilepsia* 48: 2336-2344. doi: 10.1111/j.1528-1167.2007.01222.x.

Tolchin, B, Hirsch, L.J., LaFrance Jr., W.C. (2020). Neuropsychiatric aspects of epilepsy. *Psychiatr Clin N Am* 43: 275-290. doi: 10.1016/j.psc.2020.02.002.

Victoroff JI, Benson F, Grafton ST, et al. (1994). Depression in complex partial seizures: electroencephalography and cerebral metabolic correlates. *Arch Neurol* 51: 155-63. doi: 10.1001/archneur.1994.00540140061016.

World Health Organization. International classification of disease, 10th ed., Geneva: World Health Organization; 1992.

World Health Organization global status report on alcohol. Geneva: World Health Organization; 2011.

Yan QS, Jobe PC, Dailey JW. (1993). Evidence that a serotonergic mechanism is involved in the anticonvulsant effect of fluoxetine in genetically epilepsy prone rats. *Eur J Pharmacol* 252: 105-12. doi: 10.1016/0014-2999(94)90581-9.

NORMALIZAÇÃO FORÇADA: REENCONTRO ENTRE NEUROLOGIA E PSIQUIATRIA

José Augusto Bragatti

lattes.cnpq.br/8397700489355897

Unidade de Neurofisiologia Clínica

Serviço de Neurologia

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

RESUMO - O fenômeno da Normalização Forçada (NF) foi descrito pela primeira vez por Landolt em 1953, ao observar o desaparecimento de descargas epileptiformes no EEG, concomitante com o desenvolvimento de sintomas psicóticos, em uma série de pacientes com epilepsia. Mais tarde, Tellenbach cunhou o termo “Psicose Alternativa” referindo-se especificamente à alternância entre fenômenos clínicos. Finalmente, em 1991, Wolf observou um processo degenerativo envolvido no fenômeno, ao qual ele denominou “Normalização Paradoxal”. Inicialmente, a NF foi explicada por meio de modelos experimentais em animais e a demonstração do fenômeno *kindling*, em suas subdivisões elétrica e farmacológica. Nesta fase, eram aplicados estímulos elétricos repetitivos a regiões suscetíveis do cérebro (hipocampo e amígdala), numa tentativa de explicar a base fisiopatológica da epileptogênese do lobo temporal.

Da mesma forma, através da manipulação farmacológica, especialmente de circuitos dopaminérgicos, as comorbidades psiquiátricas começaram a ter seus mecanismos básicos compreendidos. Com o desenvolvimento de novas técnicas de imagem (EEG/fMRI), estudos na área passaram a focar na conectividade funcional (CF) de diferentes regiões cerebrais, com redes neuronais específicas, que regem as emoções. Assim, foi produzida uma série de evidências relacionando a ocorrência de descargas epiléticas no sistema límbico e consequentes coativação e desativação dessas “redes de estado de repouso”. No entanto, ainda há muitas controvérsias sobre os mecanismos básicos das alterações de redes relacionadas ao controle emocional. Uma metodologia de estudo mais homogênea será necessária para explicar esse interessante fenômeno neuropsiquiátrico com maior precisão.

PALAVRAS-CHAVE: Epilepsia; Comorbidades psiquiátricas; Normalização forçada.

1. INTRODUÇÃO

A bidirecionalidade entre epilepsia e transtornos mentais começou a ser observada em meados do século XIX, e esse conceito tem evoluído desde então (KANNER *et al.*, 2017). Inicialmente descrita a partir da observação de pacientes com epilepsia e sintomas psicóticos, esta associação posteriormente foi estendida a outros distúrbios neuropsiquiátricos, como depressão, transtorno de conversão e enxaqueca (KRISHNAMOORTHY e TRIMBLE, 1999; RUSSO *et al.*, 2017). No início do século XX, vários estudos sobre o antagonismo biológico entre epilepsia e esquizofrenia floresceram, e culminaram no desenvolvimento da terapia convulsiva, introduzida por von Meduna, para o tratamento de pacientes psicóticos (SCHMITZ, 1998).

Inspirado nessas obras, Landolt, em 1953, introduziu o conceito de NF, referindo-se ao desaparecimento da atividade epileptiforme no EEG de pacientes com epilepsia resistente a medicamentos, concomitante a uma mudança comportamental aguda. Na década seguinte, Tellenbach, aplicando os conceitos de seu antecessor a aspectos puramente clínicos, chamou de “psicose alternativa” as manifestações mentais alternadas com as convulsões desses pacientes. Finalmente, em 1991, observando que uma das facetas desse fenômeno, apesar da normalização do EEG, era uma deterioração do quadro clínico, Wolf propôs o termo “normalização paradoxal” (CALLE-LÓPEZ *et al.*, 2019).

Os critérios diagnósticos para a NF incluem um diagnóstico estabelecido de epilepsia e a presença de um transtorno comportamental agudo/subagudo, com redução concomitante da atividade epiléptica no EEG, e/ou cessação completa das crises clínicas, por pelo menos 1 semana (KRISHNAMOORTHY e TRIMBLE, 1999). Em uma revisão sistemática recente, Calle-López e colaboradores (2019) descreveram os aspectos mais típicos da FN: ocorre predominantemente em pacientes com epilepsia de longo prazo e descontrolada; a manifestação psiquiátrica mais comum é psicose; e os fatores desencadeadores são medicamentos anticrise (MAC) e cirurgia de epilepsia. A descontinuação dos MAC proporcionou resolução completa da NF, embora o uso de antipsicóticos não tenha garantido uma boa evolução (CALLE-LÓPEZ *et al.*, 2019).

O objetivo desta mini revisão é relatar a evolução dos diversos mecanismos fisiopatológicos evidenciados pelo desenvolvimento de métodos de pesquisa ao longo dos anos, e discutir controvérsias e lacunas sobre o tema, propondo estudos futuros sobre esse velho-novo fenômeno neuropsiquiátrico.

2. ANTAGONISMO BIOLÓGICO: FENÔMENOS DE KINDLING ELÉTRICO E FARMACOLÓGICO

Slater e colaboradores (1963) aprofundaram os conceitos de Landolt, ao descrever uma forma especial de psicose associada à epilepsia

(semelhante à esquizofrenia), diferenciando-a da forma clássica da esquizofrenia, por sua preservação característica da afetividade e capacidade do indivíduo para relacionamentos interpessoais. Nesse sentido, a Psicose da Epilepsia se assemelha muito à Psicose da Anfetamina, descrita por Bell (1965). Além disso, corroborando os conceitos de Landolt, Flor-Henry (1969) estabeleceu uma série de correlações entre psicose e epilepsia. Entre eles: (1) associação de psicose e foco epiléptico temporal envolvendo o hemisfério dominante; (2) associações entre epilepsia do lobo temporal esquerdo com esquizofrenia, lobo temporal direito com doença maníaco-depressiva e focos bilaterais com estados afetivos esquizofrênicos; e, finalmente, (3) correlações inversas entre frequência de crises do lobo temporal e sintomas psicóticos, e frequência de convulsões generalizadas com síndrome maníaco-depressiva.

Um dos métodos pioneiros na investigação da fisiopatologia das epilepsias, os modelos animais de crises epiléticas revelaram conhecimentos seminais sobre os mecanismos subjacentes às comorbidades, sua bidirecionalidade, bem como sua predisposição genética compartilhada. Os modelos animais têm contribuído muito para o reconhecimento atual da epilepsia como transtorno de espectro, bem como para a identificação de potenciais alvos para seu tratamento e prevenção (BROOKS-KAYAL *et al.*, 2013).

Um dos modelos experimentais mais utilizados é o fenômeno de *kindling*, que compreende duas formas: (1) *kindling* elétrico; e (2) *kindling* farmacológico. No método de *kindling* elétrico, produz-se, através de um processo controlado de estimulações elétricas, uma sequência previsível de mudanças graduais nas organizações moleculares e celulares dos circuitos neuronais. Graças a este excelente modelo experimental para epilepsia do lobo temporal, é possível entender as consequências de repetidas crises epiléticas, com a constatação de que seus efeitos não são benignos (SUTULA e KOTLOSKI, 2017). O *kindling* farmacológico (ou dopaminérgico) estuda os efeitos crônicos de anfetaminas, cocaína, lidocaína e agonistas dopaminérgicos no SNC, e é um grande modelo experimental para mudanças comportamentais, tais como psicose (POLLOCK, 1987).

Goddard e colaboradores (1969) definiram as bases fisiopatológicas do *kindling* elétrico. Os autores descobriram que, aplicando estímulos elétricos de baixa amplitude e alta frequência a regiões cerebrais suscetíveis (amígdala, hipocampo, septo), estabelece-se um estado permanente de excitabilidade neuronal, com progressão gradual das respostas comportamentais e EEG, culminando em uma convulsão motora completa. Eles propuseram que o mecanismo poderia ser uma redução progressiva do limiar de descarga, a pós-descarga, causado pelos estímulos elétricos seriais. Com o acúmulo das pós-descargas, seria favorecido o desenvolvimento de uma convulsão completa. Há também uma transferência de excitação para a amígdala contralateral (“foco espelho”), e uma vez estabelecido esse novo foco, a capacidade do foco original produzir uma crise após estímulos elétricos fica

diminuída (MCINTYRE e GODDARD, 1973). Assim, o foco secundário inibe o desenvolvimento de crises originárias do foco primário.

O *kindling* farmacológico desenvolve-se através da aplicação de agentes farmacológicos (anfetaminas, cocaína, lidocaína) no sistema límbico de roedores, com a produção de efeitos mentais crônicos (estereótipos, comportamento aprendido perturbado, psicose paranoica). Difere do *kindling* elétrico, pois seu ponto final é marcado por algum tipo de expressão afetiva, bem como pela persistência duradoura de seus efeitos (LESSE e COLLINS, 1979). O fenômeno é modulado por mudanças nas vias dopaminérgicas e receptores de dopamina, vasopressina e peptídeos opiáceos endógenos (Post et al., 1984), que são modificados pelo estresse (ELLINWOOD e KILBEY, 1980).

Um estudo interessante desenvolveu um modelo de psicose usando estímulos elétricos e farmacológicos associados (STEVENS e LIVERMORE, 1978). Por meio desse método combinado, os autores inibiram a liberação de dopamina no *neostriatum*, bloqueando o GABA na área tegmental ventral, com bicuculina. Concluíram que o sistema catecolinérgico inibe a atividade epiléptica no EEG e a expressão de crises epilépticas, produzindo um intenso estado de alerta, com olhos fixos, medo e isolacionismo (“menos epilepsia, mais psicose”). Por outro lado, a indução de crises epilépticas através da estimulação elétrica levou a uma diminuição nos níveis de catecolamina e outras manifestações psicóticas. Por sua vez, Sato *et al.*, (1979) demonstraram que a progressão do *kindling* da amígdala para uma crise epiléptica generalizada é suprimida pela super sensibilização de receptores dopaminérgicos por cocaína e apomorfina, e facilitada pelo bloqueio desses receptores por drogas neurolépticas, como haloperidol. Wada (1980) descreveu que chegar ao ponto final de uma convulsão motora torna-se progressivamente mais difícil, quanto maior a classificação na escala filogenética, sendo a crise, em escalas filogenéticas mais altas, substituída por alguma outra forma de expressão comportamental.

Juntos, esses estudos demonstraram que os *kindling* elétricos e farmacológicos têm mecanismos completamente diferentes e antagônicos, e forneceram uma base teórica para o conceito de NF de Landolt (SCHMITZ, 1998).

3. NOVOS CONCEITOS SOBRE MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS: CONECTÔMICA

Avanços recentes trouxeram uma melhor compreensão dos processos celulares envolvidos na epileptogênese, como o funcionamento dos canais iônicos e o papel dos neurotransmissores na geração de crises epilépticas. Num nível sistêmico, o desenvolvimento de novas técnicas de neuroimagem e eletrofisiológicas reforçou o conceito atual de que a epilepsia é, em última análise, uma doença de conexões aberrantes entre neurônios e grupos neuronais. Acima de tudo, a sincronização neuronal anormal

característica das epilepsias só pode ser demonstrada no nível das redes neuronais (ENGEL *et al.*, 2013). Nesse sentido, as conexões estruturais (tratos de substância branca) puderam ser demonstradas através da Imagem de Tensão da Difusão (ITD). Por outro lado, no estudo das conexões funcionais, dois novos exames passaram a ser utilizados: ressonância magnética funcional (RMf) associada ao EEG invasivo e não invasivo. A associação de ambos (EEG/RMf) permitiu o acesso a informações mais abrangentes, sendo a vantajosa resolução espacial do RMf combinada com a resolução temporal do EEG. Assim, eventos neurofisiológicos relevantes passaram a ser estudados funcionalmente em termos espaciais. O princípio da conectividade funcional (CF), habilitado pela análise com RMf, baseia-se no conceito de que regiões cerebrais que apresentam flutuações de sinal ao mesmo tempo são consideradas regiões funcionalmente relacionadas (ENGEL *et al.*, 2013).

Um trabalho recente (TONG *et al.*, 2019) estudou a CF de descargas epileptiformes interictais (DEI) ocorrendo no hipocampo e amígdala de pacientes com epilepsia do lobo temporal unilateral. Os autores analisaram, por EEG/RMf, 261 eventos (133 à esquerda; 128 à direita) de 21 pacientes com ELT unilateral (10 à esquerda; 11 à direita). Em suma, eles descobriram que as DEI à esquerda exercem maior influência nas redes sediadas no hipocampo. As DEI à direita, por sua vez, exercem maior influência nas redes sediadas na amígdala. A principal constatação do estudo foi que a DEI desligou o hipocampo ipsilateral da Rede de Modo Padrão (RMP). A desativação do RMP no momento do evento epileptiforme explicaria o comprometimento cognitivo associado às crises nesta região. A Rede de Recompensa/Emoção também teve sua CF alterada após a ocorrência de DEI. Quando estas ocorriam à esquerda, elas alteravam preferencialmente o sistema límbico pré-frontal (emoção); quando à direita, coativavam o sistema de recompensa. Os autores interpretaram este último achado como um possível mecanismo para a NF.

3.1 Redes de estado de repouso na ELT

A Rede de Estado de Repouso é um grupo específico de estruturas cerebrais que funcionam sincronicamente durante o repouso, e são moduladas por tarefas funcionais específicas. Estão envolvidas no controle de funções corticais mais elevadas, tais como: consciência, cognição, comportamento afetivo e atenção. A ELT afeta a Rede de Estado de Repouso, podendo ser considerada uma doença desse sistema (CATALDI *et al.*, 2013). No cérebro normal, há dois grandes grupos de redes neurais (BISWAL *et al.*, 1995): O Grupo 1 está envolvido em processos sensoriais e motores, e é formado pelas redes visual, auditiva e sensoriomotora; O Grupo 2 está envolvido com funções corticais mais altas, e é formado por RMP, Redes de Atenção (dorsal e ventral), Rede de Saliência, Rede de Recompensa/Emoção e Redes de Linguagem.

A RMP é formada pelo córtex pré-frontal, córtices parietais medial,

lateral e inferior, pré-cuneus e cerebelo. É ativada por tarefas cognitivas, recuperação da memória, vislumbre do futuro, teoria da mente e na expressão de julgamentos morais. Por outro lado, a RMP tem sua atividade reduzida em resposta a desafios externos, tarefas orientadas a metas e na ELT. A diminuição da conectividade da RMP é proporcional à duração e gravidade da ELT, e pode refletir mudanças estruturais cumulativas. Por outro lado, a ativação da RMP é diminuída concomitantemente com o aparecimento de descargas interictais no EEG. Esta desativação ocorre principalmente nos cíngulos posteriores, pré-cuneus e lobos frontais e parietais bilaterais (LAUFS *et al.*, 2007).

A Rede de Recompensa/Emoção pode ser dividida em dois sistemas principais: Sistema de Recompensa e Emoção (TOMASI e VOLKOW, 2011). O Sistema de Recompensa está centrado no sistema dopaminérgico mesolímbico (tegmentum ventral e suas projeções). O Sistema Emocional é baseado principalmente no sistema límbico pré-frontal. A estrutura comum desses dois sistemas é a amígdala, que serve como um eixo funcional para identificar o Sistema de Recompensa/Emoção por estudos de ressonância magnética (ETKIN *et al.*, 2015).

Em uma meta-análise recente, Doucet *et al.* (2013) concluíram que a CF sediada no hipocampo apresenta maiores alterações em pacientes com TLE esquerdo, enquanto a CF sediada na amígdala é mais alterada em pacientes com ELT à direita. Nesse sentido, as descargas epiléticas à esquerda exercem um recrutamento da RMP pelo hipocampo esquerdo, enquanto as descargas epileptiformes à direita aumentam a CF da amígdala direita, exercendo suas ações acima de tudo na Rede de Recompensa/Emoção. Portanto, as descargas epileptiformes à esquerda podem alterar a regulação emocional através de distúrbios do sistema límbico pré-frontal, e, por outro lado, a CF entre a amígdala direita e o Sistema de Recompensa aumenta imediatamente após as descargas epileptiformes à direita (DI *et al.*, 2017).

A coativação transitória do Sistema de Recompensa após as DEI à direita poderia explicar o fenômeno da NF, e o fato de que atividades epiléticas e sintomas psíquicos são condições bidirecionais (KANNER, 2011). Essa hipótese é apoiada por exemplos práticos, como o uso de eletroconvulsoterapia para o tratamento da depressão (TONG *et al.*, 2019).

3.2 Padrões de conectividade funcional alterada na ELT

Pittau *et al.* (2012) estudaram a CF entre estruturas temporais mesiais e as Redes de Estado de Repouso. Os autores selecionaram dados de EEG/RMf, sem descargas no EEG, de 23 pacientes com ELTM (16 à direita e 7 à esquerda). Os dados foram comparados a 23 indivíduos controle saudáveis, pareados por idade, sexo e dominância hemisférica. O estudo teve 4 achados principais: (1) pacientes com ELTM (direita ou esquerda) apresentaram

redução significativa da CF de estruturas temporais mesiais saudáveis contralaterais ao foco epiléptico com regiões de RMP e estruturas pré-frontais ventromédio-límbicas; (2) diminuição da CF contralateral ao foco com o hipocampo doente, e RMP e estruturas pré-frontais ventromédio-límbicas; (3) a amígdala dos lados saudável e doente apresentam as mesmas alterações de CF hipocampal; e (4) CF alterada entre estruturas temporais mesiais e a formação reticular. A conectividade alterada entre estruturas temporais mesiais e a rede mesolímbica poderia explicar os transtornos psiquiátricos em pacientes com ELT, mesmo na ausência de descargas epileptiformes.

3.3 EEG e transtornos psiquiátricos em epilepsia do lobo temporal

Uma das questões mais controversas sobre a associação entre ELT e comorbidades psiquiátricas refere-se às características eletroencefalográficas dessa associação. Em uma recente metanálise sobre o tema (LOURENÇO *et al.*, 2020), os autores concluíram que há poucos estudos publicados, com conclusões contraditórias sobre a lateralidade e o índice de descargas epileptiformes, bem como as patologias psiquiátricas encontradas (psicose x depressão).

Bragatti *et al.* (2009) encontraram associação entre descargas epilépticas ocorridas no hemisfério esquerdo com três vezes mais chance de serem associadas a transtornos de humor; e, quando pouco frequentes (<1/min), estas foram estatisticamente associadas com transtornos de humor. (BRAGATTI *et al.*, 2014). Com base no fato de que as descargas epileptiformes estão associadas a alterações no fluxo sanguíneo e no metabolismo cerebral (RODIN *et al.*, 2009), os autores propuseram que o baixo índice de descargas encontrado em pacientes com transtornos de humor poderia ser um biomarcador para o diagnóstico de depressão.

A periodicidade das descargas epileptiformes foi identificada como um marcador de gravidade clínica, caracterizada por refratariedade a medicamentos e comorbidades psiquiátricas graves (SAN-JUAN *et al.*, 2013). Essa afirmação foi apoiada por outro estudo, que concluiu que pacientes com descargas pouco frequentes (<60/h) têm baixo percentual de refratariedade, com pouca ou nenhuma presença de comorbidades (NAPOLITANO *et al.*, 2021).

Usando eletrodos invasivos, Kuba *et al.* (2012) descreveram dois casos: no primeiro caso, durante o período de psicose pós-ictal (PP), o EEG do paciente apresentou ondas lentas rítmicas e complexos de ondas “abortivas” no hipocampo direito e neocórtex. Na segunda paciente, o EEG apresentou ondas trifásicas periódicas no giro cingulado anterior esquerdo, no período PP (diferente do padrão ictal encontrado nesses pacientes). O fenômeno da NF também foi apoiado pelo estudo de dois pacientes com ELT que desenvolveram PP prolongada. Durante esse período, os EEGs repetidos não demonstraram descargas epileptiformes, que eventualmente

retornaram após a remissão de sintomas psicóticos (AKANUMA *et al.*, 2005). No entanto, Schulze-Bonhage *et al.* (2010) descreveram dois casos em que o índice e distribuição de espículas não mudaram durante o PP.

4. EPILEPSIA COMO TRANSTORNO NEURODEGENERATIVA: ANORMALIDADES ESTRUTURAIS DE MATÉRIA CINZENTA NO SISTEMA LÍMBICO ASSOCIADAS A TRANSTORNOS PSIQUIÁTRICOS

Utilizando 3 diferentes exames de neuroimagem (morfometria à base de voxel, ITD e tractografia probabilística), Bonilha *et al.* (2010) encontraram uma importante redução no volume regional de substância cinzenta e anisotropia fracionada nas áreas límbica e perihippocampal dos pacientes com ELTM. Também houve redução da tractografia probabilística nas áreas límbicas desses pacientes. Foi encontrada uma relação significativa entre a perda de conexões hipocampais e a atrofia do volume regional de substância cinzenta envolvendo o putamen, o palidado, o meio e o hemisfério temporal ferior, a amígdala e o hemisfério cerebelar, sugerindo que a atrofia extrahippocampal em pacientes com ELTM pode estar relacionada à deafferentação hipocampal.

Um trabalho recente estudou a influência a longo prazo da progressão da atrofia hipocampal, ao longo do tempo, sobre a dinâmica das descargas interictais epiléticas em pacientes com ELT (BRITO *et al.*, 2021). Os autores classificaram os EEGs em quatro grupos: (1) descargas ipsilaterais (à esclerose hipocampal), (2) descargas bilaterais, (3) descargas contralaterais e (4) EEG normal. A duração da epilepsia e dos grupos de EEG foram estatisticamente relacionadas. Houve aumento das descargas ipsilaterais e diminuição dos EEGs normais ao longo do tempo. As descargas contralaterais permaneceram estáveis, o que pode refletir anormalidades precoces em vez da progressão da epilepsia. Assim, as comorbidades psiquiátricas podem estar relacionadas às descargas contralaterais à esclerose hipocampal.

Por outro lado, anormalidades na espessura cortical podem estar relacionadas a outros sintomas no paciente com ELT, além de crises epiléticas. A gravidade dos sintomas depressivos em pacientes com ELT tem sido associada a um espessamento do córtex orbitofrontal, uma região límbica de processamento emocional fortemente interconectada com estruturas temporais mesiais (BUTLER *et al.*, 2012).

5. DISCUSSÃO

O fenômeno da NF, estabelecido há mais de 60 anos, é composto por alguns dogmas e muitas controvérsias. Estudos iniciais, com modelos experimentais de animais, na tentativa de reproduzir os cenários de ELT e suas comorbidades psiquiátricas, demonstraram que há um verdadeiro antagonismo entre os fenômenos de origem epilética em comparação com as manifestações psiquiátricas resultantes de disfunções estabelecidas

em circuitos límbicos, seja por estimulação elétrica, seja por manipulação farmacológica desses circuitos. Em princípio, esse antagonismo fisiopatológico reforçaria a tese geral do fenômeno da NF. No entanto, há duas dificuldades contrárias a essa teoria: (1) não há evidências de que o fenômeno de *kindling* ocorra em humanos; e (2) em animais, o fenômeno não se deve a uma lesão estrutural no lobo temporal, embora em humanos, a epilepsia do lobo temporal seja frequentemente causada por algum tipo de lesão (ADAMEC, 1990).

As coativações e desativações de Redes de Estado de Repouso, amplamente demonstradas por estudos de EEG/RMf, podem explicar o fenômeno da NF, bem como a bidirecionalidade entre epilepsia e comorbidades psiquiátricas, mesmo na ausência de descargas epileptiformes. No entanto, há uma hipótese alternativa para explicar os fenômenos de CF encontrados até agora: as mudanças ocorridas na RMP facilitariam o surgimento de DEI (STERIADE, 2005). Essa hipótese já foi comprovada no caso de descargas generalizadas e suas ativações com os fusos de sono e a reação de despertar. O tálamo desempenharia um papel na propagação de descargas generalizadas, bem como o hipocampo na propagação de DEI na ELT. Ambos os fenômenos resultariam em desativação antidrômica na RPM.

As maiores controvérsias dizem respeito à influência das DEI nas manifestações psiquiátricas de pacientes com ELT. Há controvérsias quanto à lateralização e quantidade de descargas, que seriam um biomarcador para transtornos de humor, bem como quanto ao desaparecimento de descargas no momento do aparecimento de sintomas psicóticos, o que apoiaria o fenômeno da NF. Correlações entre a duração da epilepsia e possíveis alterações degenerativas progressivas associadas, instaladas em regiões-chave para o controle emocional, devem ser mais bem exploradas.

Somente estudos prospectivos, com populações homogêneas, utilizando questionários estruturados e aplicando a nova metodologia do acoplamento EEG/RMf, poderão lançar mais luz sobre o mapa de CF de diferentes redes neuronais e sua relação com o fenômeno epiléptico, presente em diferentes regiões do córtex cerebral. Estudos futuros podem revelar mais claramente as relações reais existentes entre as DEI e as Redes de Estado de Repouso, explicando assim a fisiopatologia da NF.

Acima de tudo, o fenômeno da Normalização Forçada, combinando manifestações epilépticas com transtornos psiquiátricos, com mecanismos fisiopatológicos comuns, resgata uma cisão ocorrida entre a Neurologia e a Psiquiatria, no início do século XX, e através de novas técnicas de exploração diagnóstica, auxilia a promover o retorno da reunião entre as duas áreas.

Declaração de interesse

O conteúdo desse capítulo foi publicado em *Frontiers of Integrative Neurociences*: Bragatti JA (2021) Forced Normalization Revisited: New Concepts About a Paradoxical Phenomenon. *Front. Integr. Neurosci.*

15:736248. doi: 10.3389/fnint.2021.73624.

REFERÊNCIAS

- Adamec, R.E. (1990). Does kindling model anything clinically relevant? *Biol. Psychiat.* 27, 249-279. DOI: 10.1016/0006-3223(90)90001-i.
- Akanuma, N., Kanemoto, K., Adachi, N., Kawasaki, J., Ito, M., Onuma, T. (2005). Prolonged postictal psychosis with forced normalization (Landolt) in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.* 6, 456-459. DOI: 10.1016/j.yebeh.2005.01.013.
- Bell, D.S. (1965). Comparison of amphetamine psychosis and schizophrenia. *Brit. J. Psychiat.* 111, 701-707. DOI: 10.1192/bjp.111.477.701.
- Biswal, B., Yerkin, F.Z., Haughton, V.M., Hyde, J.S. (1995). Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echoplanar MRI. *Magn. Res. Med.* 34: 537-541. DOI: 10.1002/mrm.1910340409.
- Bonilha, L., Edwards, J.C., Kinsman, S.L., Morgan, P.S., Fridriksson, J., Rorden, C., et al. (2010). Extrahippocampal gray matter loss and hippocampal deafferentation in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 51, 519-528. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2009.02506.x.
- Bragatti, J.A., Torres, C.M., Assmann, J.B., Fontana, V., Rigotti, C.P., Hidalgo, M.P.I., et al. (2009). Left-sided EEG focus and positive psychiatric family history are independent risk factors for affective disorders in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 87, 169-176. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2009.08.010.
- Bragatti, J.A., Torres, C.M., Cherubini, P.A., Leistner-Segal, S., Bianchini, M.M. (2014). Is interictal EEG activity a biomarker for mood disorders in temporal lobe epilepsy? *Clin. Neurophysiol.* 125, 1952-1958. DOI: 10.1016/j.clinph.2014.02.013.
- Brito, M.R., Prado, T.S., Alvim, M.K.M., Santos, L.S.R., Morita-Sherman, M., Yasuda, C.L., et al. (2021). Longitudinal analysis of interictal electroencephalograms in patients with temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. *Seizure* in press. DOI: 10.1016/j.seizure.2021.02.008.
- Brook-Kayal, A.R., Bath, K.G., Berg, A.T., Galanopoulou, A.S., Holmes, G.L., Jensen, F.E., et al. (2013). Issues related to symptomatic and disease-modifying treatments affecting cognitive and neuropsychiatric comorbidities of epilepsy. *Epilepsia* 54 (Suppl.4), 44-60. DOI: 10.1111/epi.12298.
- Butler, T., Blackmon, K., McDonald, C.R., Carlson, C., Barr, W.B., Devinsky, O., et al. (2012). Cortical thickness abnormalities associated with depressive symptoms in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.* 23, 64-67. DOI: 10.1016/j.yebeh.2011.10.001.
- Calle-López, Y., Ladino, L.D., Benjumea-Cuartas, V., Castrillón-Velilla, D.M., Téllez-Zenteno, J.F., and Wolf, P. (2019). Forced normalization: a systematic review. *Epilepsia* 60, 1610-1618. DOI: 10.1111/epi.276.

Cataldi, M., Avoli, M., de Villers-Sidani, E. (2013). Resting state networks in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 54, 2048-2059. DOI: 10.1111/epi.12400.

Di, X., Huang, J., Biswal, B.B. (2017). Task modulated brain connectivity of the amygdala: a meta-analysis of psychophysiological interactions. *Brain Struct. Funct.* 222, 619-634. DOI: 10.1007/s00429-016-1239-4.

Doucet, G.E., Skidmore, C., Sharan, A.D., Sperling, M.R., Tracy, J.I. (2013). Functional connectivity abnormalities vary by amygdala subdivision and are associated with psychiatric symptoms in unilateral temporal epilepsy. *Brain Cogn.* 83, 171-182. DOI: 10.1016/j.bandc.2013.08.001.

Ellinwood, E.H.Jr., and Kilbey, M.M. (1980). Fundamental mechanisms underlying altered behavior following chronic administration of psychomotor stimulants. *Biol. Psychiat.* 15, 749-757. PMID: 6106515.

Engel, J.Jr., Thompson, P.M., Stern, J.M., Staba, R.J., Bragin, A., and Mody, I. (2013). Connectomics and epilepsy. *Curr. Opin. Neurol.* 26, 186-194. DOI: 10.1097/WCO.0b013e32835ee5b8.

Etkin, A., Büchel, C., Gross, J.J. (2015). The neural bases of emotion regulation. *Nat. Rev. Neurosci.* 16, 693-700. DOI: 10.1038/nrn4044.

Flor-Henry, P. (1969). Psychosis and temporal lobe epilepsy: a controlled investigation. *Epilepsia* 10, 363-395. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1969.tb03853.x.

Goddard, G.V., McIntyre, D.C., and Leech, C.K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.* 25, 295-330. DOI: 10.1016/0014-4886(69)90128-9.

Kanner, A.M. (2011). Depression and epilepsy: a bidirectional relation? *Epilepsia* 52 (Suppl.1), 21-27. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2010.02907.x.

Kanner, A.M., Scharfman, H., Jette, N., Anagnostou, E., Bernard, C., Camfield, C., et al. (2017). Epilepsy as a network disorder (1): what can we learn from other network disorders such as autistic spectrum disorder and mood disorders? *Epilepsy Behav.* 77, 106-113. DOI: 10.1016/j.yebeh.2017.09.014.

Krishnamoorthy, E.S., and Trimble, M.R. (1999). Forced normalization: clinical and therapeutical relevance. *Epilepsia* 40 (Suppl. 10), S57-S64. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1999.tb00886.x.

Kuba, R., Brazdil, M., Rektor, I., Postictal psychosis and its electrophysiological correlates in invasive EEG: a case report study and literature review. *Epilepsy Behav.* 23, 426-430. DOI: 10.1016/j.yebeh.2012.02.004.

Laufs, H., Hamandi, K., Salek-Haddadi, A., Kleinschmidt, A.K., Duncan, J.S., Lemieux, L. (2007). Temporal lobe interictal epileptiform discharges affect cerebral activity in "default mode" brain regions. *Hum. Brain Mapp.* 28, 1023-1032. DOI: 10.1002/hbm.20323.

Lesse, H., and Collins, J.P. (1979). Effects of cocaine on propagation of limbic seizure activity. *Pharmacol. Biochem. and Behav.* 11, 689-694. DOI: 10.1016/0091-3057(79)90263-6.

Lourenço, F.H.B., Marques, L.H.N., de Araújo Filho, G.M. (2020). Electroencephalogram alterations associated with psychiatric disorders in temporal lobe epilepsy with mesial sclerosis: a systematic review. *Epilepsy Behav.* 108, 107100. DOI: 10.1016/j.yebeh.2020.107100.

McIntyre, D.C., and Goddard, G.V. (1973). Transfer, interference, and spontaneous recovery of convulsions kindled from the rat amygdala. *Clin. Neurophysiol.* 35, 533-543. DOI: 10.1016/0013-4694(73)90030-8.

Napolitano, C.E., Magunacelaya, P., Orriols, M. (2021). Absolute spike frequency and different comorbidities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.* 116, 107730. DOI: 10.1016/j.yebeh.2020.107730.

Pittau, F., Grova, C., Moeller, F., Dubeau, F., Gotman, J. Patterns of altered functional connectivity in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 53, 1013-1023. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2012.03464.x.

Pollock, D.C. (1987). Models for understanding the antagonism between seizures and psychosis. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.* 11, 483-504. DOI: 10.1016/0278-5846(87)90017-0.

Post, R.M., Rubinow, D.R., and Ballenger, J.C. (1984). "Conditioning, sensitization, and kindling: for the course of affective illness" in *Neurobiology of Mood Disorders*, eds. R.M. Post and J.C. Ballenger (Baltimore, MD, Williams and Wilkins).

Rodin, E. (2009). The interictal spike: what does it means? *Clin. EEG Neurosci.* 40, IV. DOI: 10.1177/155005940904000403.

Russo, A., Silvestro, M., Tessitore, A., and Tedeschi, G. (2017). "Forced normalization": could it occur also in migraine patients? *Headache* 57, 803-805. DOI: 10.1111/head.13079.

San-Juan, D., Mayorga, A.P.M., Calcâneo, J.D.D.C., González-Aragón, M.F., Alonso-Vanegas, M., Rico, C.D., et al. (2013). *Seizure* 22, 735-742. DOI: 10.1016/j.seizure.2013.05.013.

Sato, M., Hikasa, N., and Otsuki, S. (1979). Experimental epilepsy, psychosis and dopamine receptor sensitivity. *Biol. Psychiat.* 14, 537-540. PMID: 476234.

Schmitz, B. (1998). "Forced normalization": history of a concept" in *Forced Normalization and Alternative Psychoses of Epilepsy*, eds M.R. Trimble and B. Schmitz (Petersfield, UK and Bristol, PA, USA: Wrightson), 7-24.

Schulze-Bonhage, A., van Elst, L.T. (2010). Postictal psychosis: evidence for extrafocal functional precursors. *Epilepsy Behav.* 18, 308-312. DOI: 10.1016/j.yebeh.2010.02.009.

Slater, E., Beard, A.W., and Glithero, E. (1963). The schizophrenia-like psychoses

of epilepsy: i. psychiatric aspects. *Brit. J. Psychiat.* 109, 95-112. DOI: 10.1192/bjp.109.458.95.

Steriade, M. (2005). Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends Neurosci.* 28, 317-324. DOI: 10.1016/j.tins.2005.03.007.

Stevens, J.R., and Livermore, A.Jr. (1978). Kindling of the mesolimbic dopamine system: animal model of psychosis. *Neurology* 28, 36-46. DOI: 10.1212/wnl.28.1.36.

Sutula, T.P., and Kotoloski, R.J. (2017). "Kindling: a model and phenomenon of epilepsy" in *Models of Seizures and Epilepsy*, eds. A. Pitkänen, P.S. Buckmaster, A.S. Ganopoulou, and S.L. Moshé (London, UK: Academic Press), 813-825.

Tomasi, D., and Volkow, N.D. (2011). Association between functional connectivity hubs and brain networks. *Cereb. Cortex* 21, 2003-2013. DOI: 10.1093/cercor/bhq268.

Tong, X., An, D., Xiao, F., Lei, D., Niu, R., Li, W., et al. (2019). Real-time effects of interictal spikes on hippocampus and amygdala functional connectivity in unilateral temporal lobe epilepsy: na EEG-fMRI study. *Epilepsia* 60, 246-254. DOI: 10.1111/epi.14646.

Wada, J.A. (1980). "Amygdaloid and frontal cortical kindling in subhuman primates" in *Limbic Epilepsy and the Dyscontrol Syndrome*, eds. M. Girgis, and L.G. Kiloh (Amsterdam: Elsevier), 133-147.

FORCED NORMALIZATION: RE-ENCOUNTER BETWEEN NEUROLOGY AND PSYCHIATRY

ABSTRACT - The Forced Normalization (NF) phenomenon was first described by Landolt in 1953, when he observed the disappearance of epileptiform discharges on the EEG, concomitant with the development of psychotic symptoms, in a series of patients with epilepsy. Tellenbach later coined the term "Alternative Psychosis" referring specifically to the alternation between clinical phenomena. Finally, in 1991, Wolf observed a degenerative process involved in the phenomenon, which he called "Paradoxal Normalization". Initially, NF was explained through experimental models in animals and the demonstration of the kindling phenomenon, in its electrical and pharmacological subdivisions. At this stage, repetitive electrical stimuli were applied to susceptible regions of the brain (hippocampus and amygdala), in an attempt to explain the pathophysiological basis of temporal lobe epileptogenesis. Likewise, through pharmacological manipulation, especially of dopaminergic circuits, psychiatric comorbidities began to have their basic mechanisms understood. With the development of new imaging techniques (EEG/fMRI), studies in the area began to focus on the functional connectivity (FC) of different brain regions, with specific neuronal networks that govern emotions. Thus, a series of evidence was produced relating the occurrence of epileptic discharges in the limbic system and the consequent coactivation and deactivation of these "rest state networks". However, there are still many controversies about the basic mechanisms of network alterations related to emotional control. A more homogeneous study methodology will be needed to explain this interesting neuropsychiatric phenomenon with greater precision.

KEYWORDS: Epilepsy; Psychiatric comorbidities; Forced normalization.



ÁREA CLÍNICA: INFECTOLOGIA

SEÇÃO 3

CAPACIDADE DE ACESSO LEXICAL EM IDOSOS PORTADORES DO VÍRUS HIV

Maria Fernanda Siqueira Houtet
UNIRIO Rio de Janeiro RJ
lattes.cnpq.br/3676221620764051

Viviane dos Santos Marques
UNIRIO Rio de Janeiro RJ
lattes.cnpq.br/9761285035879266

RESUMO - Introdução: O HIV / AIDS freqüentemente afeta o Sistema Nervoso Central e pode causar alteração cognitiva, além de comprometer as funções da memória de trabalho, principalmente o acesso lexical que afeta o desempenho das atividades diárias. Objetivo: O objetivo foi avaliar a capacidade de acesso lexical em idosos com HIV, em comparação com idosos soropositivos. Método: Comparação do desempenho do grupo experimental e controle, após a aplicação do Mini Exame do Estado Mental (MEEM) e do Teste de Fluência Verbal (VFT) e análise da correlação da contagem de linfócitos TCD4, tempo de diagnóstico e tempo de uso Antiretroviral. Esta pesquisa foi aprovada pelo CEP com parecer número 1000359. Resultados: Os idosos com HIV / AIDS tiveram desempenho inferior com significância estatística nos testes do MEEM, obtendo pontuação média

de 25,6 quando comparados ao grupo controle que obteve pontuação de 27,6 e VFT. A média foi de 15,9 pontos para o grupo experimental e 18,1 para o controle, mostrando pior desempenho no acesso lexical no grupo HIV. Ao correlacionar os testes com a taxa de linfócitos TCD4 com o MEEM, eles mostraram significância para melhor desempenho e quanto menor o tempo de diagnóstico, maiores os escores. Conclusão: O baixo desempenho na capacidade de acesso lexical do grupo experimental quando comparado ao grupo controle reforça a importância de avaliar e intervir precocemente nas funções cognitivas para manter a independência e a qualidade de vida do idoso com HIV / AIDS.

PALAVRA-CHAVE: Vocabulário; Memória; Terapia de fala; Sorodiagnóstico da AIDS e sorodiagnóstico do HIV.

1. INTRODUÇÃO

A AIDS (síndrome da imunodeficiência adquirida) surgiu mundialmente entre 1977 e 1978, quando os primeiros casos foram registrados nos EUA, África Central e Haiti.

No Brasil, o primeiro caso apareceu em São Paulo em 1980 e

só foi classificado em 1982, quando a nova síndrome, AIDS, foi oficialmente definida. A síndrome da imunodeficiência adquirida humana (SIDA) é causada por dois lentivírus: vírus da imunodeficiência humana tipos 1 e 2 (HIV-1 e HIV-2). Ambos são o resultado de múltiplas transmissões entre espécies de vírus encontrados em primatas africanos. Assim, está claro que o HIV-1 e o HIV-2 resultaram da transferência de vírus que infectam primatas na África.

A infecção pelo HIV é caracterizada pela destruição de linfócitos TCD4 + (LT-CD4 +) e replicação viral contínua. Diante disso, ocorre uma supressão do sistema imunológico, o que favorece o aparecimento de infecções oportunistas, até atingir o último estágio da infecção, que é a AIDS, representando um dos graves problemas de saúde pública.

A manifestação da AIDS em idosos é um problema crescente no Brasil e reforça a necessidade do estabelecimento de políticas públicas de prevenção, diagnóstico precoce e tratamento clínico adequado desse grupo. Com o avanço da doença, várias são as manifestações clínicas, como por exemplo degeneração do sistema nervoso central, hipotrofia muscular e processos malignos, com isso ocorre também o aparecimento de distúrbios fonoaudiológicos nesses indivíduos, dentre esses distúrbios neurocognitivos, afetando as funções mentais superiores, como linguagem, atenção, memória, percepção, emoção e pensamento.

A Fonoaudiologia como ciência da saúde lida com questões relevantes para as funções mentais e suas repercussões na linguagem, cognição e fala. Uma queixa prevalente nos idosos em geral são as dificuldades de memória e acesso ao léxico, que se referem à busca por palavras existentes em nosso vocabulário mental, denominadas léxico, que por vezes afetam sua comunicação, suas atividades diárias e conseqüentemente a qualidade de vida. A infecção pelo HIV freqüentemente afeta o Sistema Nervoso Central (SNC). Estudos relatam que essa infecção ocorre nos primeiros anos de infecção do vírus, devido ao tropismo do vírus pelo SNC, que se replica e libera os vírions (partícula viral fora da célula) no parênquima cerebral. O vírus usa infectados macrófagos e consegue atravessar a barreira hematoencefálica, que funciona como uma espécie de filtro, que autoriza ou nega a entrada de certas substâncias no SNC. Uma vez dentro do SN, o vírus infecta as células da glia, que acabam secretando neurotoxinas, levando a danos neuronais e morte. Embora o uso da terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) tenha resultado em notável declínio nas condições infecciosas, morbidade e mortalidade em pacientes com AIDS, ela não é tão eficaz no sistema nervoso, pois os principais antirretrovirais têm acesso insuficiente ou nulo ao SNC, devido à presença da barreira hematoencefálica, tornando o cérebro mais suscetível à infecção pelo HIV. As concordâncias dos principais distúrbios neurológicos descritos na literatura nos casos de demência pelo HIV são: perda de memória visuoespacial, perda da coordenação visuomotora, esquecimento, dificuldade de concentração e atenção, pensamento lento, incluindo compreensão e processamento e déficit de memória verbal. Os

distúrbios neurocognitivos associados ao HIV variam entre os indivíduos HIV positivos, de acordo com o estágio em que se encontram, sejam sintomáticos ou assintomáticos. São mais frequentes na população sintomática, geralmente se manifestam por alterações de memória, concentração e baixa velocidade de processamento, possivelmente associadas a neuropatia sensorial e distúrbios musculares. Tendo em vista que o tratamento do HIV / AIDS vem evoluindo ao longo dos anos, desde sua descrição inicial, a melhora no tratamento tem levado a um aumento significativo da expectativa de vida dos portadores do vírus, desenvolvendo a necessidade de investigar as dificuldades relacionadas aos aspectos de linguagem, memória e acesso lexical, pois afetam diretamente o desempenho das atividades de vida diária, a adesão ao tratamento e, conseqüentemente, podem comprometer a qualidade de vida dos pacientes.

2. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo, transversal, quantitativo, cujo objetivo principal foi investigar a influência do vírus HIV no desempenho da função cognitiva, por meio da avaliação da capacidade de acesso lexical. Os participantes foram 40 idosos recrutados para o grupo experimental e 40 recrutados para o grupo controle. No recrutamento do grupo experimental, foram selecionados os idosos com idade igual ou superior a 60 anos, portadores do HIV, que estavam em acompanhamento no Serviço de Imunologia de o Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, que estavam clinicamente basais, ou seja, sem manifestação de doenças oportunistas e / ou outras alterações clínicas. No grupo controle, foram recrutados idosos saudáveis do Grupo Idosos, com sorologia HIV negativa, obtidos através de teste rápido anti-HIV, realizado no Centro de Testagem de Aids do Hospital. Entre os critérios de inclusão para os dois grupos avaliados foram, ambos os sexos, com semelhança na média de idade e anos de estudo. No grupo experimental com HIV, foi somada a média das informações clínicas coletadas nos prontuários, tais como: tempo de diagnóstico, contagem de linfócitos T CD4 e tempo de uso de tratamento antirretroviral (TARV). Foram aplicados os seguintes testes cognitivos: Mini O Exame do Estado Mental (MEEM), que é um instrumento rápido e reconhecido para o rastreamento de déficits cognitivos. A categoria semântica do teste de fluência verbal (VFT), que avalia as funções executivas cognitivas da linguagem e da memória semântica, especialmente a capacidade e agilidade de acesso para o léxico mental, para a aplicação desse teste, foi utilizado um cronômetro para controlar o tempo de 1 minuto exigido pelo teste. Para análise estatística, foi utilizado o teste U de Mann-Whitney para as correlações. Foi considerado nível de significância $\alpha = 0,05$, sendo a diferença considerada significativa quando o valor de p estava abaixo de α . O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado nas correlações entre os parâmetros analisados no grupo de pacientes com HIV, que é a medida da relação entre duas características

numéricas. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Gafreé Guinle, com o parecer número 1000359.

3. RESULTADOS

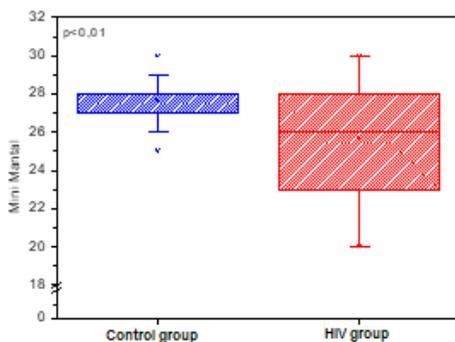
Neste estudo, foi utilizada uma amostra de conveniência e avaliados 80 pacientes, sendo 40 com diagnóstico de infecção pelo HIV, clinicamente estáveis e que se propuseram a participar e 40 idosos com sorologia HIV negativa, conforme os critérios de inclusão para análise. Destes, $n = 62$ eram do sexo feminino (77,5%) e $n = 18$ do sexo masculino (22,5%). A idade dos indivíduos variou entre 60 e 88 anos, com média de idade de 68,7 anos, não apresentando significância diferencial entre os grupos para o valor p . Quanto à escolaridade, foi considerada em anos de estudo, comparando-se os dois grupos. A Tabela 1 mostra que o grupo controle apresentou média de 10,2 anos de escolaridade, com desvio padrão de ($\pm 4,11$) anos. A média de idade do grupo experimental foi de 8,87 anos de escolaridade e o desvio padrão foi de ($\pm 3,71$) e p sem significado. Embora o grupo experimental tenha menor escolaridade, não apresentou significância estatística. No VFT, foi selecionada a categoria mais utilizada, que é a de animais, por se acreditar ser a menos vulnerável à variável escolaridade. É um teste que avalia a habilidade de evocar palavras sob condições direcionadas, e a pontuação corresponde ao número total de nomes de animais produzidos em 1 minuto, que é o foco deste estudo, para avaliar se houve diferença no desempenho, conforme mostra a tabela 1.

Tabela 1: Características dos grupos pesquisados, distribuição por nível de escolaridade e os testes aplicados:

	Grupo controle (G1) n=40	Grupo experimental (G2) n=40	P-valor
Escolaridade (anos)	10.2 \pm 4.11	8.87 \pm 3.71	ns
MEEM Teste	27.6 \pm 1.43	25.6 \pm 2.89	<0.01
VFT Teste	18.1 \pm 4.23	15.9 \pm 6.07	<0.02

Foram identificados valores de $p < 0,01$ e $p < 0,02$ na amostra, demonstrando significância estatística nos resultados da aplicação dos testes cognitivos propostos, conforme demonstrado na tabela 2 e gráficos 2 e 3, quando os grupos foram comparados. Para o MEEM, no grupo controle (G1) a média foi de 27,6 e desvio padrão ($\pm 1,43$), no grupo experimental (G2) para o mesmo teste, a média foi de 25,6 e desvio padrão ($\pm 2,89$). No teste da Média 18,1 e \pm VFT 4,23 desvio padrão, para G1 e G2, média 15,9 e desvio padrão 6,07.

Gráfico: I



Mini Gráfico Mental: O grupo HIV apresenta maior comprometimento do Mini Mental em comparação ao grupo controle, de forma significativa ($p < 0,01$).

Gráfico: II

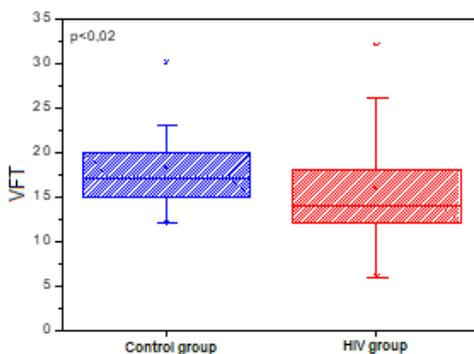


Gráfico VFT: O grupo HIV teve um desempenho significativamente pior no teste de fluência verbal em comparação com o grupo controle, significativamente ($p < 0,02$).

Em relação às variáveis específicas do grupo experimental, os dados foram coletados em prontuário, com base no último exame realizado até a data da entrevista, obteve-se como resultado para CD4, o nadir médio foi de 626,5 cel / mm³, com valores de ($\pm 316,8$) cel / mm³, de desvio padrão. Apenas um paciente apresentou CD4 <200 cel / mm³, representando 2,5% da amostra. Correlacionamos o CD4 com os testes MEEM e VFT para verificar se haveria influência no desempenho dos testes, conforme gráfico nº III:

Gráfico III: Correlação CD4 e VFT: Não houve correlação entre as variáveis.

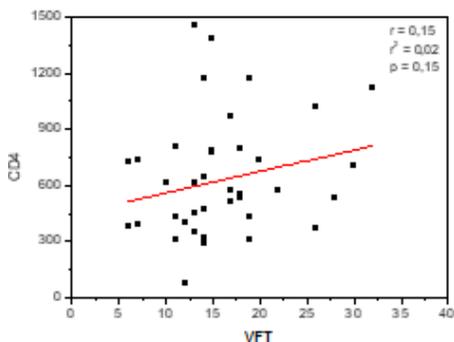
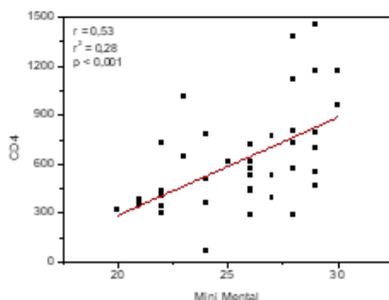


Gráfico IV: CD4 e Mini Correlação Mental: Houve correlação moderada e significativa entre as variáveis.



Em relação ao tempo de diagnóstico registrado em meses, a média foi de 174,6 meses com valores de desvio padrão de ($\pm 69,8$) meses. Esse tempo foi relacionado a cada teste utilizado na amostra para analisar a possibilidade dessa variável influenciar os valores de normalidade esperados.

Gráfico V: Correlação Tempo de diagnóstico e Mini Mental: Não há correlação entre as variáveis.

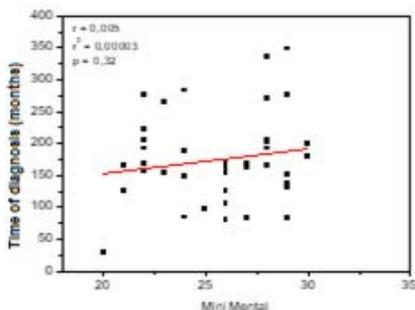
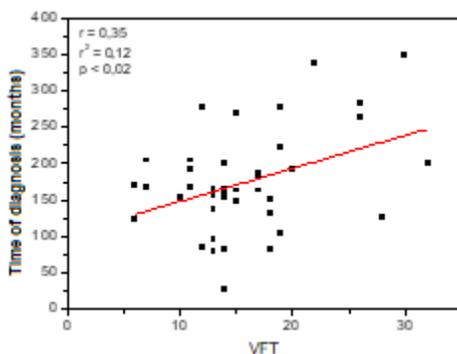
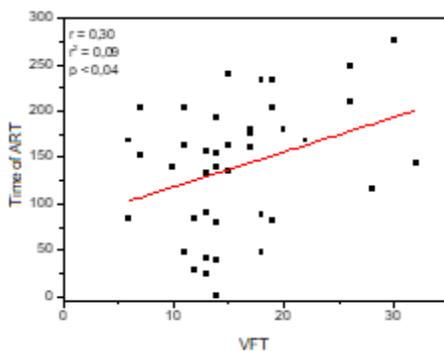


Gráfico VI: Tempo de correlação entre ART e VFT: Houve correlação fraca e significativa entre as variáveis.



Em relação ao tratamento, o tempo de uso da TARV foi registrado em meses, obtendo-se as respectivas médias e desvios-padrão ($140,1 \pm 69,4$). O tempo de uso da TARV foi correlacionado com os testes realizados para verificar se haveria influência desta variável. Porém, na correlação Tempo de TARV e Mini Mental, não houve correlação entre as variáveis e na correlação Tempo de TARV e VFT houve correlação fraca, porém significativa entre as variáveis.

Gráfico: VII Tempo de correlação entre ART e VFT: Houve correlação fraca e significativa entre as variáveis



4. DISCUSSÃO

No presente estudo, as mulheres prevaleceram na amostra global, por maior disponibilidade e acessibilidade feminina. Embora haja maior incidência de HIV em homens e a diferença de incidência entre os sexos tenha diminuído substancialmente desde o início da epidemia, a influência do gênero na cognição é menos explorada do que a influência da idade e

escolaridade.

A idade variou de 60 a 88 anos em ambos os grupos, mantendo uma idade próxima à média, de acordo com os resultados, não apresentando diferença estatisticamente significativa, o que mostra a compatibilidade de comparação, uma vez que esta variável influencia o desempenho cognitivo. A proporção entre os pacientes HIV positivos, tem aumentado progressivamente e tende a manter esse crescimento, visto que a sobrevivência dos pacientes em uso de TARV está aumentando, e há uma maior expectativa de vida da população em geral. O envelhecimento populacional é um fenômeno demográfico mundial e do ponto de vista biológico, o envelhecimento está associado a uma série de alterações e adaptações fisiológicas, que, apesar de apresentarem uma alteração em relação a um padrão anterior de funcionamento, não representam necessariamente alterações patológicas. Um melhor conhecimento destes é necessário, visando ao desenvolvimento de estratégias de tratamento dessas alterações.

A escolaridade parece ter relevância significativa no funcionamento cognitivo, com associação de outras variáveis como estilo de vida, participação em atividades físicas, alimentação, engajamento social e desenvolvimento neuronal. Em nossa amostra, os indivíduos com mais anos de escolaridade estiveram presentes no G1 e um pouco menos no G2, mas não apresentaram diferença estatisticamente relevante mesmo quando comparados aos Valores do VFT, conforme mostra a tabela 3 anexa.

A partir da análise dos resultados encontrados com a aplicação do teste MEEM, na comparação do desempenho dos grupos, o G1 obteve escores entre 25 e 30 pontos, todos com média acima do ponto de corte estabelecido para a população brasileira alfabetizada, segundo Almeida, enquanto o G2 apresentou escores de 20 a 30 pontos, obtendo significância estatística de $p < 0,01$, ao comparar o desempenho desse grupo com o G1 neste teste. Em outro estudo de 2002, Brucki et al, propuseram sugestões para o uso do MEEM no Brasil, apresentou a escolaridade como fator de maior influência no desempenho no teste e sugeriu que os escores do MEEM variaram de acordo com os anos de escolaridade, de 1 a 4 anos (escore 20), 5 a 8 anos (escore 25), 9 a 11 (escore de 27), 12 anos ou mais (escore 28 e 29). Em outro estudo, realizado por Lourenço e Veras, em 2006, com 303 idosos atendidos em ambulatórios de saúde geral, concluíram que o melhor ponto de corte para scree cognitivo foi de 18/19 para analfabetos e para os com escolaridade foi de 24/25, o que corrobora com o nosso ponto de corte estabelecido para este estudo. Porém, é necessário a realização de novos estudos, com amostra maior na população idosa com HIV / AIDS para obter maior conhecimento científico específico desta população estudada e sobre a confiabilidade dos pontos de corte estabelecidos.

Também obtivemos valor de $p < 0,02$ na aplicação do teste VFT na comparação dos grupos, respondendo às hipóteses desta pesquisa, sugerindo que a infecção pelo HIV predispõe os idosos à redução do acesso

lexical, quando comparados aos idosos com sorologia HIV negativa.

Os achados da fluência verbal sugerem a interferência na memória de trabalho, principalmente no que se refere à consciência fonológica, uma vez que a velocidade e acurácia no acesso ao léxico mental são habilidades do processamento fonológico, que se referem a como a informação é processada, armazenada e utilizada. Alguns indicadores revelam que a memória de trabalho desempenha um papel importante nas tarefas que solicitam consciência fonológica, pois, durante a execução de uma tarefa desta natureza, é necessário manter material verbal na memória de trabalho, para que haja sucesso na resolução da tarefa solicitada.

Essa triagem cognitiva sinaliza os diferentes resultados apresentados entre os grupos estudados, o que também sugere encaminhamento para outros serviços de saúde que possam elucidar melhor o diagnóstico de déficit cognitivo e reafirma a necessidade da aplicação de testes neurocognitivos em suas consultas de rotina e o valor do atendimento multidisciplinar a estes pacientes, o teste de fluência verbal é recomendado por ser um teste amplamente utilizado para rastreamento de déficits cognitivos, varreduras de demência como demência de Alzheimer, dano neurológico após acidente vascular encefálico, já que a execução da tarefa proposta no teste exige integridade de habilidades cognitivas como memória (semântica) e funções executivas (seleção e busca). A aplicação da VFT também pode possibilitar atenção precoce às questões cognitivas e diversas intervenções terapêuticas, ao verificar a eficácia da estimulação cognitiva e do treinamento da memória, o que pode contribuir significativamente para o bem-estar do idosos e seus familiares, uma vez que produzem a manutenção da autonomia. Isso corrobora o delineamento deste estudo, visto que a população geriátrica e portadora de HIV / AIDS apresenta grande chance de desenvolver alterações cognitivas.

Em relação às variáveis específicas do G2, foram analisadas as taxas de T CD4, com o devido conhecimento de sua influência no estado clínico geral desses pacientes, ao correlacionar seus valores com o teste de fluência verbal, não foi encontrada correlação. Porém, em relação ao Teste MEEM, houve significância moderada. Isso sugere que pensar na melhor condição clínica promove uma melhora na cognição.

Na análise do tempo de diagnóstico com os exames, não houve correlação com o MEEM, mas houve correlação fraca e significativa entre essa variável e o VFT. O mesmo aconteceu ao analisar a correlação do tempo de uso da TARV com os testes, para o MEEM não houve correspondência, mas houve uma influência fraca e significativa no teste de fluência verbal. Para todas essas variáveis, exceto para o índice de CD4, foi medido em meses (tempo de diagnóstico e tempo de TARV). Embora resultados relacionais e estatisticamente significativos tenham sido encontrados, tais dados não podem ser tomados como absolutos, pois mais estudos são necessários para uma real padronização.

Esta pesquisa sugere que novos estudos com amostras maiores sejam realizados, principalmente em relação aos objetivos secundários, que foi a correlação do linfócito T CD4, tempo de diagnóstico e uso de TARV com VFT. Tivemos uma amostra restrita neste estudo, visto o grande número de pacientes que se recusaram a participar da pesquisa, por motivos pessoais e principalmente por terem sido investigados em inúmeros estudos realizados no setor de imunologia do hospital e além da dificuldade de disponibilidade do grupo controle de voluntários e principalmente a recusa em fazer o teste anti-HIV, fatores que limitaram o n deste estudo a 80 participantes.

5. CONCLUSÃO

Este estudo mostra que pacientes com idade superior a 60 anos vivendo com HIV acompanhados no serviço de imunologia do HUGG apresentam bom controle da doença, porém com alterações significativas no acesso lexical e no mini exame do estado mental ao se equiparar ao grupo controle de idosos soronegativos, o que reforça a importância desse tipo de avaliação e de outras intervenções fonoaudiológicas precoces, estimulação da linguagem e cognição, a fim de conter ou retardar possíveis declínios cognitivos. A pesquisa também sugere a necessidade de novas investigações sobre as alterações cognitivas em idosos com HIV / AIDS e de estudos com amostra maior para consolidação dos dados.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A.Q.C.; PRUFER, A.; NOVIS, S.A.P. (2015) **Neuropatogenia do HIV**. Rev Depart Ed. Física, Saúde Mestrado Promoção Saúde Universidade de Santa Cruz do Sul / Unisc.16(3).

ALLAIN, P.; ETCHARRY-BOUYX, F.; VERNY, C. (2013) **Executive functions in clinical and preclinical Alzheimer's disease**. Rev Neurol. 169(10):695-708.

ALMEIDA, O.P. (1998) **Mini exame do estado mental e o diagnóstico de demência no Brasil**. Arq Neuropsiquiatr. 56(3B):605-12.

ALLOWAY, T.P.; GATHERCOLE, S.E.; WILLIS, C.E.; ADAMS, A (2004). **A structural analysis of working memory and related cognitive skills in young children**. J Experim Child Psychol. 7(87):85-106.

ASEGA, H.L.; GROSCOSKI, L.; OLIVEIRA, L.Z.; SILVA, M.M.; MARQUES, S.; CARVALHO, T.O. (2015) **Envelhecendo com HIV: características clínicas, perfil de tratamento e riscos em pacientes de um hospital terciário**. Rev Tendencias em HIV/AIDS. 10(2):33-7.

BELL, J.E. (2004) **An update on the neuropathology of HIV in the HAART era**. Histopathology. 45:549-59.

Brasil. Ministério da Saúde. **Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais**. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/historia-da-aids>. Acesso em: 20 Ago 2020.

Brasil. Ministério da Saúde. **Epidemiologia e serviços de saúde**. Rev Sistema Único Saúde. 2012;21(1):188.

Brasil. Ministério da Saúde. **MS/SVS/Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais/Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos**. Brasília – DF, 2015.

BRUCKI, S.M.D.; NITRINI, R.; CARAMELLI, P.; BERTOLUCCI, P.H.F.; OKAMOTO, I.H. (2003) **Sugestões para o uso do Mini exame do Estado Mental**. Arq. Neuro-Psiquiatr. 61(3-B):777-81.

CAO, B.; KONG, X.; KETTERING, C.; YU, P.; RAGING, A. (2015) **Determinants of HIV-induced brain changes in three different periods of the early clinical course: A data mining analysis**. Neuroimage Clin. Aug 1;9:75-82.

CAPOVILLA, A.G.S.; GUTSCHOW, C.R.D.; CAPOVILLA, F.C. (2004) **Habilidades cognitivas que predizem competência de leitura e escrita**. Psicol Teor Prát.6(2):13-26.

CHRISTO, P.P. (2010) **Alterações cognitivas na infecção pelo HIV e AIDS**. Revista. Ass Med Bras. 56(2):242-47.

DAS, M.K.; SARMA, A.; CHAKRABORTY, T.; **Nano-ART and NeuroAIDS**. Drug Deliv Transl Res. 2016;6(5):452-72.

DEERE, J.D.; CHANG, W.L.W.; CASTILLO, L.D.; SCHMIDT, K.A.; KIEU, H.T.; RENZETTE, N. et al. (2016) **Utilizing a TLR5-Adjuvanted Cytomegalovirus as a Lentiviral Vaccine in the Nonhuman Primate Model for AIDS**. PLoS One. 11(5) e 0155629.

DINIZ, B.S.O. **Envelhecimento Cognitivo. In: Estimulação cognitiva para idosos – ênfase em memória**. Rio de Janeiro: Atheneu; 2013.

EASTMAN, J.A.; HWANG, K.S.; LAZARIS, A.; CHOW, N.; RAMIREZ, L.; BABAKCHANIAN, S. et al.(2013) **Cortical Thickness and Semantic Fluency in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment**. Am J Alzheimers Dis. 1(2):81-92.

FERREIRA, L.P.; BEFI-LOPES, D.M.; LINONGI, S.C.O. (2004) **Tratado de Fonoaudiologia**. Rio de Janeiro Editora: Roca.

FILHO, J.R.P.; SANTOS, F.H. (2008) **Brazilian Studies in HIV-Associated Dementia**. DST J Bras Doenças Sex Transm. 20(3-4):196-203.

GINDRI, G.; KESKE, M.; MOTA, H.B. (2007) **Memória de trabalho, consciência**

fonológica e hipótese de escrita. Pró-fono Rev Atual Cient. 19(3):313-22.

HAYFLICK, L. (1998) How and why age. Exp Gerontol. 33(7-8):639-53.

KALIL, R.S.; BAUER, P.G.; SANTORO, G.M.R.; ESPINDOLA-PEREIRA, I.A.; FERRY, F.R.A.; MOTTA, R.N. et al. (2005) **Infecção HIV no Cérebro: as bases biológicas da neuropsicologia.** DST J Bras Doenças Sex Transm. 17(1):71-5.

LAWRENCE, D.M.; MAJOR, E.O. (2002) **HIV-1 and the brain: connections between HIV-associated dementia, neuropathology and neuroimmunology.** Microbes Infect. 4:301-8.

LEMOS, D.C.H. **Disartria.** Rio de Janeiro Editora: Enelivros; 1992.

LIMA, M.D.; FIRMO, A.A.; MARTINS-MELO, F.R. (2016) **Trends in AIDS-related mortality among people aged 60 years and older in Brazil: a nationwide population-based study.** AIDS Care. 2:1-8.

LOURENÇO, R.A.; VERAS, R.P. (2006) **Mini-Exame do Estado Mental: características psicométricas em idosos ambulatoriais.** Rev Saúde Pública. 40(4):712-9.

MARDH, S.; NAGGA, K.; SAMUELSSON, S.A. (2013) **longitudinal study of semantic memory impairment in patients with Alzheimer's disease.** Cortex. 49(2):528-33.

MCDOWD, J.; HOFFMAN, L.; ROZEK, E.; LYONS, K.E.; PAHWA, R.; BURNS, J.; KEMPER, S. (2011) **Understanding verbal fluency in healthy aging, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease.** Neuropsychology. 25(2):210-25.

MORGADO, I. (2005) **Psicología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes.** Rev Neurol. 40(5):289-197.

NERI, A.L. **Envelhecimento cognitivo. In: Tratado de Geriatria e Gerontologia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

NITRINIR, R.; LEFEVRE, B.H.; MATHIAS, S.D.; CAMELLI, P.; CARRILHO, P.E.M.; SAUAIA, N. et al. (1994) **Testes neuropsicológicos de aplicação simples para o diagnóstico de demência.** Arq Neuropsiquiatr. 52(4):457-65.

OLIVEIRA, G.R.; CUNHA, M.C. (2017) **Efeitos da atividade assistida por animais nas condutas comunicativas de idosos: abordagem fonoaudiológica.** Distúrb Comun. 29(4):644

PAUL, M.; SHARP; BEATRICE, H.; (2011) **Origins of HIV and the AIDS Pandemic.** Hahn Cold Spring Harb Perspect Med. 1(1):006841.

RODRIGUES, A.B.O.; YAMASHITA, E.T. (2008) **Teste de Fluência Verbal no Adulto e no Idoso: Verificação da aprendizagem verbal.** Rev CEFAC. 10(4):443-51.

ROSSELI, M.; TAPPEN, R.; WILLIAMS, C.; SALVATIERRA, J. (2006) **The relation of education and gender on the attention items of the Mini Mental State Examination in Spanish speaking Hispanic elders.** *Arc Clin Neuropsychol.* 27(7):677-86.

SANTANA, A.P.O.; SANTOIS, K.P. (2015) **Test de Fluidez Verbal: una revisión histórico crítica del concepto de fluência.** *Distúrb Comun.* 27(4):807-18.

SILVA, T.B.L.; NEVES, G.S.; ALMEIDA, E.B.; SANTOS, F.S. (2013) **Envelhecimento demográfico e cognitivo e a funcionalidade da população brasileira.** In: **Estimulação Cognitiva para idosos – ênfase em memória.** Rio de Janeiro Editora: Atheneu.

SOUZA, H.; MARQUES, D. (2009) **Benefícios de Treinamento Aeróbio e/ou Resistido em Indivíduos HIV+: Uma Revisão Sistemática.** *Rev Bras Med Esporte.* 15(6):467-71.

STRAUSS, E.A. (2006) **Compendium of neuropsychological tests: Administration, Norms, and Commentary.** Oxford: Oxford University Press.

YASSUDA, M.S. **Memória e envelhecimento saudável.** In: **Tratado de Geriatria e Gerontologia.** Rio de Janeiro Editora: Guanabara Koogan; 2002.

CAPACITY OF LEXICAL ACCESS IN ELDERLY INDIVIDUALS LIVING WITH HIV VIRUS

ABSTRACT - Introduction: HIV/AIDS frequently affects the Central Nervous System and may cause a cognitive decrease, and compromise the functions of working memory, especially the lexical access that affects the performance of daily activities. Goal: The purpose was to evaluate the ability of lexical access in seniors with HIV, in comparison with HIV-positive elderly. Method: Comparison of the performance of the experimental and control group, after the application of the Mini-Mental State Examination (MMSE) and the Verbal Fluency Test (VFT) aFnd analysis of the correlation of TCD4 lymphocyte count, time of diagnosis and time using ART. This research was approved by the REC with opinion number 1000359. Results: The elderly with HIV/AIDS had a lower performance with statistical significance in the MMSE tests, obtaining an average score of 25.6 when compared to the control group that obtained the score of 27.6 and VFT. The average was 15.9 points for the experimental group and 18.1 for the control, showing a worse performance in lexical access in the HIV group. When correlating the tests with the TCD4 lymphocyte rate with the MMSE, they showed significance for improved performance and the shorter the time of diagnosis, the higher the scores. Conclusion: The low performance in the lexical access capacity of the experimental group when compared to the control group reinforces the importance of assessing and intervening early in cognitive functions to maintain the independence and quality of life of the elderly with HIV/AIDS.

KEYWORDS: Vocabulary; Memory; Speech therapy; AIDS serodiagnosis and HIV serodiagnosis.

CAPÍTULO 9

IDENTIFICAÇÃO DE ALTERAÇÕES NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS HEPÁTICAS EM PACIENTES COM INFECÇÃO CRÔNICA PELOS VÍRUS DA HEPATITE B OU C POR METABONÔMICA BASEADA EM RMN DE ¹H

Joelma Carvalho Santos

lattes.cnpq.br/5500583207625455

Programa de Pós-Graduação em
Medicina Tropical - Universidade
Federal de Pernambuco, Recife, PE

Liana Ribeiro Gouveia

lattes.cnpq.br/2726596888389276

Departamento de Química
Fundamental - Universidade Federal
de Pernambuco, Recife, PE

Andrea Dória Batista

lattes.cnpq.br/1797039371972056

Hospital das Clínicas - Universidade
Federal de Pernambuco/Ebserh,
Recife, PE

Izolda Maria Fernandes de Moura

lattes.cnpq.br/6616017887153610

Hospital das Clínicas - Universidade
Federal de Pernambuco, Recife, PE

**Michele Maria Gonçalves de
Godoy**

lattes.cnpq.br/9183872247426449

Hospital das Clínicas - Universidade
Federal de Pernambuco, Recife, PE

**Edmundo Pessoa de Almeida
Lopes**

lattes.cnpq.br/1738354802121443

Programa de Pós-Graduação em
Medicina Tropical - Universidade
Federal de Pernambuco, Recife, PE
Hospital das Clínicas - Universidade
Federal de Pernambuco, Recife, PE

Ricardo Oliveira Silva

lattes.cnpq.br/6974730097895255

Departamento de Química
Fundamental - Universidade Federal
de Pernambuco, Recife, PE

RESUMO - O objetivo deste estudo foi identificar alterações na atividade das enzimas hepáticas (ALT, AST e GGT) devido à infecção pelos vírus da hepatite B (HBV) ou C (HCV), em uma única amostra de soro, por meio de modelos metabonômicos baseados em espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H). Foram incluídos 203 pacientes adultos previamente diagnosticados com monoinfecção pelo HBV (n=117) ou HCV (n=86). Os espectros de RMN foram obtidos utilizando o espectrômetro *VARIAN Unity Plus 300*, enquanto os níveis de atividade enzimática por método

cinético automatizado, que foram tidos como padrão-ouro. Os modelos foram construídos usando Análise Discriminante por Projeção Ortogonal de Estruturas Latentes (OPLS-DA), na plataforma *MetaboAnalyst* 3.6. São três modelos para avaliação da atividade enzimática, independentemente do tipo de vírus relacionado à infecção: (1) ALT; (2) AST; e (3) GGT. O modelo ALT apresentou sensibilidade (Sn) de 95,4%, especificidade (Sp) de 93,9% com maior concentração de carboidratos e menores níveis de HDL e LDL, aminoácidos e espécies insaturadas e aromáticas no grupo com ALT elevada. Acurácia semelhante foi encontrada para o modelo AST, com Sn=95,5%, Sp=96,5% e atividade elevada de AST também associada a maiores concentrações de carboidratos e menores níveis de aminoácidos. O modelo para GGT não foi discriminante. Portanto, os modelos construídos identificaram alterações nas atividades de AST e ALT e as classes de compostos associadas à discriminação, usando um único espectro de RMN de ^1H e representando mais uma aplicação da metabonômica para avaliar a doença hepática nesses pacientes.

PALAVRAS-CHAVE: Enzimas hepáticas; Metabolômica; Espectroscopia de Ressonância Magnética de Hidrogênio-1.

1. INTRODUÇÃO

Elevados níveis de atividade das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gamma-glutamil transferase (GGT) são preditivos de lesões nos hepatócitos, incluindo uma gama de etiologias, como hepatites virais, doença hepática gordurosa, alcoólica ou tóxica (SOOKOIAN *et al.*,2015; VAN BEEK *et al.*,2013). Além disso, essas alterações podem ocorrer mesmo em pacientes assintomáticos (VERSLYPE, 2004).

Assim, a avaliação da atividade destas enzimas hepáticas ainda é o teste mais utilizado na prática clínica para avaliar agressão aos hepatócitos (SOOKOIAN *et al.*,2015), mesmo que esses exames não sejam capazes de distinguir as diferentes etiologias (FORNACIARI *et al.*,2014; SOOKOIAN *et al.*,2015). Ademais, os níveis séricos das enzimas hepáticas são variáveis e, às vezes, podem ser subestimados, já que nos anos 70, quando pacientes saudáveis foram recrutados para estabelecer os valores normais, pacientes com doença hepática subclínica, como hepatite C crônica ou doença hepática gordurosa não alcoólica podem ter sido incluídos (GIANNINI *et al.*,2005; LOPES *et al.*,2006). Isso fez com que os limites superiores de normalidade dessas enzimas fossem mais elevados, mascarando alterações enzimáticas discretas.

Em pacientes com infecção crônica pelos vírus da hepatite B (HBV) ou C (HCV), o monitoramento dos níveis séricos de aminotransferases mostra-se importante na caracterização da atividade e do estágio da doença hepática, bem como nas decisões de terapias antivirais. Adicionalmente, a capacidade

de estimar com exatidão os níveis séricos de AST e ALT é essencial para calcular índices não invasivos para identificar fibrose avançada, como o índice da relação aspartato aminotransferase sobre plaquetas (APRI) e o índice de fibrose baseado em quatro fatores (FIB-4), como alternativas para exclusão de fibrose avançada (WHO, 2017).

Em paralelo, a crescente utilização das ferramentas ômicas tem mudado a concepção clássica de que as aminotransferases são meramente indicadores de ruptura da membrana dos hepatócitos, e tem dado lugar a uma visão mais complexa da importância dessas enzimas na regulação da função metabólica sistêmica (SOOKOIAN *et al.*,2015). Portanto, técnicas de diagnóstico mais precisas e sensíveis são necessárias, e a metabonômica, como uma das técnicas ômicas bem estabelecidas, funciona como ferramenta para investigar doenças em seres humanos (BALOG *et al.*,2011).

Segundo Nicholson *et al.*,(1999), Metabonômica é a medida quantitativa da resposta metabólica, multiparamétrica e dependente do tempo, do sistema vivo a estímulos fisiopatológicos ou modificações genéticas. Portanto, o princípio básico da estratégia metabonômica está baseado na homeostase, com o sistema vivo produzindo uma resposta metabólica específica para a ação de um determinado agente externo.

Assim, essa estratégia pode ser usada quando há interesse em classificar amostras pelo seu status bioquímico, seja como resultado de uma doença ou outro fator que provocou alteração no perfil dos metabólitos endógenos (NICHOLSON *et al.*,2002). A metabonômica baseada em espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e análise estatística multivariada permite não apenas a classificação da amostra, mas também uma interpretação efetiva das vias metabólicas e a identificação de possíveis biomarcadores (BALOG *et al.*,2011).

A estratégia metabonômica oferece uma análise minimamente invasiva e com apenas uma amostra de soro é possível avaliar infecções e fornecer informações sobre diagnóstico e patogênese da doença hepática com alta sensibilidade e especificidade, incluindo infecções pelo HBV (GILANY *et al.*,2019; HOU; DUAN, 2016), HCV (GODOY *et al.*,2010), comparação antes e após tratamento com antivirais de ação direta (MEONI *et al.*,2019), coinfeção entre esquistossomose e hepatite B ou C (GOUVEIA *et al.*,2017), grau de fibrose hepática (BATISTA *et al.*,2018; EMBADE *et al.*,2016; SANDS *et al.*,2015; SHANMUGANATHAN *et al.*,2021) e cirrose (WANG *et al.*,2012).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi identificar alterações dos níveis séricos das enzimas hepáticas (ALT, AST e GGT) em pacientes com infecção crônica pelo HBV ou HCV, em uma mesma amostra, através de modelos metabonômicos baseados em RMN de hidrogênio (¹H).

2. MÉTODOS

2.1 Pacientes e coleta das amostras

Este estudo transversal de validação fase I/II (SACKETT; HAYNES, 2002) incluiu 203 pacientes adultos, 104 mulheres (51,2%) e 99 homens (48,8%) com idade entre 18 e 83 anos ($46,9 \pm 15,4$), atendidos no ambulatório de Hepatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

Desses 203 pacientes, 117 (57,6%) foram previamente diagnosticados com monoinfecção crônica pelo HBV (HBsAg e anti-HBc reagentes por mais de 6 meses e HBV-DNA detectável) e 86 (42,4%) pelo HCV (anti-HCV reagente por mais de 6 meses e HCV-RNA detectável). As amostras de sangue total foram imediatamente processadas para obtenção do soro. Parte das amostras foi armazenada a -20°C para posterior obtenção dos espectros por RMN de ^1H , e outra parte para realização dos exames laboratoriais. Pacientes submetidos a qualquer tratamento antiviral, utilizando imunossuppressores, coinfectados com HIV e/ou HBV/HCV e/ou esquistossomose foram excluídos do estudo.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Todos os pacientes eram adultos e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

2.2 Avaliação da atividade das enzimas hepáticas e demais exames laboratoriais

Os exames de atividade sérica da ALT, AST e GGT, e as demais análises de avaliação hepática, perfil lipídico, e glicemia foram realizados utilizando kits *Wiener Lab®* em equipamento de automação Wiener Lab® (*Wiener Lab Group*). A quantificação de plaquetas foi realizada através do equipamento de automação para hematologia Pentra 120® (*Horiba ABX Diagnostics*), e a determinação do INR utilizando analisador ACL TOP 500® (*Werfen company*), conforme o fabricante.

Os níveis de atividade enzimática obtidos foram então transformados em valores normalizados (atividade enzimática em U/L dividida pelo limite superior da normalidade), de acordo com as instruções do fabricante: para ALT < 41 U/L (homens) e < 31 U/L (mulheres), para AST < 38 U/L (homens) e < 32 U/L (mulheres), e para GGT < 50 U/L (homens) e < 32 U/L (mulheres). Posteriormente, estes pacientes foram estratificados em dois grupos de acordo com o limite superior da normalidade (LSN): níveis de atividade enzimática elevada (>1 vez o LSN) ou níveis normais (≤ 1 vez o LSN).

2.3 Análise de RMN de ^1H

Para análise de RMN, foram adicionados 400 μL de soro a 200 μL de água deuterada (Óxido de deutério, D 99.9%, Cambridge Isotope Laboratories, Inc., Tewksbury, USA), utilizando tubos de RMN de 5 mm. Todos os espectros de RMN de ^1H obtidos através do espectrômetro *VARIAN Unity Plus 300 MHz* (Varian Inc., Palo Alto, USA), utilizando o lactato como referência interna de deslocamento químico (δ 1,342 ppm). Durante a aquisição do espectro de RMN de ^1H , utilizou-se a sequência de pulsos Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), que foi empregado como um filtro de T2, com pré-saturação do sinal de água. Foi utilizada uma janela espectral de 4,8 kHz, tempo de pré-saturação igual a 2,0 s, tempo de aquisição de 1,704 s, pulso de radiofrequência (RF) de 90° , temperatura de 25°C , 88 ciclos, tau igual a 0,0004 s, bigtau igual a 0,07 s, 128 varreduras.

Os espectros foram processados usando o *software MestreNova 9.0*, nas seguintes condições: apodização igual 0,3 Hz, ajuste manual das linhas de base e fases espectrais. a região entre δ 8,00 e 0,04 ppm foi dividida em 183 regiões espectrais (bins) com 0,04 ppm de amplitude, excluindo a região entre δ 5,16 e 4,52 ppm, para eliminar o sinal residual de água.

2.4 Análises estatísticas

Após a construção dos bins, foi obtida uma matriz contendo 203 casos (linhas) e 187 variáveis (colunas). Destas 187 variáveis, 183 colunas referiram-se ao espectro de RMN de ^1H , uma coluna à identificação clínica do paciente (HBV ou HCV) e 3 colunas à classificação da atividade das enzimas hepáticas ALT, AST e GGT (normal ou alterada). A partir dessa matriz, foram originadas todas as matrizes que foram submetidas ao pré-processamento e à análise estatística multivariada.

As matrizes obtidas foram analisadas utilizando a plataforma de processamento online *MetaboAnalyst 3.6* (XIA; WISHART, 2016). Na etapa de pré-processamento, utilizou-se SNV (Variação Normal Padrão) nas amostras, e posteriormente, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) e a matriz de escores obtida foi usada como matriz de entrada para a Análise Discriminante usando Projeções Ortogonais de Estruturas Latentes (OPLS-DA). A validação do modelo OPLS-DA baseou-se no teste de permutação com 2000 permutações da variável de classe. O gráfico de escores da OPLS-DA foi utilizado para investigar se houve discriminação entre os grupos. Na sequência, as variáveis (componentes principais – PCs) foram projetadas, visando identificar quais foram as mais importantes para a discriminação. Uma vez identificadas, foi utilizado o gráfico de pesos (*loadings*) para identificar as regiões espectrais mais relevantes para aquelas PCs. Essas regiões foram comparadas com achados na literatura e com a base de dados *Human Metabolome Database* (HMDB) (WISHART *et al.*, 2009), visando identificar as classes de compostos associadas à discriminação.

Para avaliar a distribuição de dados demográficos e exames bioquímicos e de avaliação hepática entre os grupos foram realizados os testes *t* de *Student* não pareado, Mann-Whitney, Exato de Fisher, e qui-quadrado, conforme apropriado, utilizando o *software GraphPad Prism*. Foram considerados estatisticamente significantes os resultados com valor de *p* menor que 0,05 (95% de confiança).

2.5 Análise de desempenho do modelo metabonômico

Para cada modelo OPLS-DA, foi utilizada uma tabela de contingência 2x2 para calcular a sensibilidade (S_n), especificidade (S_p), razão de verossimilhança positiva (LR+), razão de verossimilhança negativa (LR-), acurácia (A) e intervalo de confiança de 95% (IC de 95%) para cada parâmetro. A análise da razão de verossimilhança foi aplicada no lugar dos valores preditivos, uma vez que não depende da prevalência do resultado para o qual o teste é usado. Utilizaram-se os seguintes parâmetros: LR+ acima de 10 indicando uma alta probabilidade da presença da alteração das enzimas hepáticas pós teste, e uma LR- abaixo de 0, indicando uma alta probabilidade de ausência da alteração das enzimas hepáticas pós teste.

3. RESULTADOS

Os níveis séricos de ALT, AST e GGT apresentaram-se elevados em 88 (43,3%), 89 (43,8%) e 98 (48,3%) pacientes com infecção crônica pelo HBV ou HCV, respectivamente, em relação aos LSN. A Tabela 1 apresenta as características demográficas, exames bioquímicos e de avaliação hepática dos 203 pacientes com infecção pelo HBV ou HCV, de acordo com os níveis séricos elevados *versus* normais para cada enzima. Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos com atividade enzimática alterada e normal, com exceção das variáveis gênero, INR, triglicerídeos, HDL-c e níveis de colesterol total. De forma geral, quando uma das enzimas, ALT, AST ou GGT, apresentou níveis séricos acima do LSN, foi acompanhada por alterações de alguns testes de avaliação hepática e da glicemia (Tabela 1).

Tabela 1: Características demográficas, exames bioquímicos e de avaliação hepática de 203 pacientes com infecção crônica pelo HBV ou HCV, de acordo com os níveis séricos aumentados (> LSN) versus normais (≤ LSN) para as enzimas ALT, AST e GGT, em Recife/PE, no período de 2014 a 2016

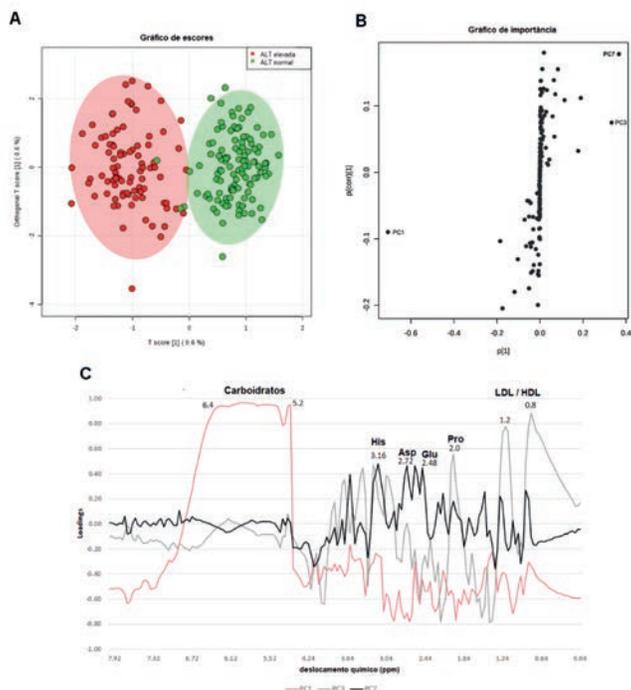
Característica	ALT			AST			GGT		
	ALT > LSN	ALT ≤ LSN	p	AST > LSN	AST ≤ LSN	p	GGT > LSN	GGT ≤ LSN	p
Aminotransferase n	88	115	-	89	114	-	98	105	-
Gênero (M/F, n, %)	45/43 (51,1/48,9)	54/61 (47/53)	0,035 ^a	40/49 (44,9/55,1)	59/55 (51,8/48,2)	0,335 ^a	43/55 (43,9/56,1)	56/49 (53,3/46,7)	0,144 ^b
Idade (anos)*	52 ± 15	43 ± 14	<0,001 ^b	54,8 ± 14	40,8 ± 13	<0,001 ^b	51 ± 15,1	43,1 ± 14,7	<0,001 ^b
ALT (/LSN)	1,74 (1,27-2,95)	0,65 (0,51-0,80)	<0,001 ^c	1,71 (1,11-2,86)	0,66 (0,51-0,86)	<0,001 ^c	1,32 (0,81-2,52)	0,72 (0,51-1,00)	<0,001 ^c
AST (/LSN)	1,74 (1,13-2,66)	0,69 (0,57-0,86)	<0,001 ^c	1,74 (1,24-2,59)	0,68 (0,57-0,81)	<0,001 ^c	1,29 (0,85-2,34)	0,73 (0,59-1,00)	<0,001 ^c
GGT(/LSN)	1,69 (0,96-2,97)	0,69 (0,50-1,10)	<0,001 ^c	1,69 (0,96-3,00)	0,67 (0,50-1,10)	<0,001 ^c	1,83 (1,32-3,00)	0,59 (0,48-0,79)	<0,001 ^c
FA (/LSN)	1,25 (0,92-1,78)	1,18 (0,80-1,65)	0,213 ^c	1,29 (0,98-1,87)	1,13 (0,80-1,48)	0,011 ^c	1,34 (0,95-1,91)	1,13 (0,78-1,43)	0,007 ^c
Bilirrubina total (mg/dL)	0,64 (0,50-0,90)	0,50 (0,40-0,80)	0,011 ^c	0,60 (0,50-1,00)	0,50 (0,40-0,80)	0,009 ^c	0,60 (0,50-0,80)	0,60 (0,40-0,80)	0,280 ^c
Albumina (g/dL)	4,2 (3,9-4,5)	4,3 (4,1-4,4)	0,430 ^c	4,2 (3,8-4,4)	4,3 (4,1-4,5)	0,003 ^c	4,2 (3,9-4,4)	4,3 (4,1-4,5)	0,002 ^c
Plaquetas (10 ⁹ /mm ³)*	199 ± 73	222 ± 71	0,030 ^b	194 ± 74	226 ± 68	0,002 ^b	204 ± 77	219 ± 67	0,147 ^b
INR	1,13 (1,00-1,16)	1,07 (1,03-1,13)	0,697 ^c	1,06 (1,00-1,14)	1,08 (1,02-1,14)	0,412 ^c	1,07 (1,00-1,14)	1,07 (1,02-1,13)	0,991 ^c
Glicose (mg/dL)	91 (82-102)	84 (76-98)	0,007 ^c	91 (82-102)	85 (76,2-98)	0,027 ^c	91 (81,4-101,5)	84,2 (76-96,2)	0,007 ^c
Colesterol total (mg/dL)*	173,1 ± 40,7	173,9 ± 43,2	0,588 ^b	171,6 ± 44,5	175,1 ± 40,04	0,591 ^b	166,9 ± 44,8	179,4 ± 38,7	0,051 ^b
HDL-c (mg/dL)*	50,6 (41-60,5)	48,6 (42,3-59)	0,622 ^c	50,6 (43,8-60,5)	47,7 (41-58,8)	0,138 ^c	48 (40-60)	51 (42,8-59,5)	0,820 ^c
LDL-c (mg/dL)	96,5 ± 36,0	102 ± 37,4	0,743 ^b	94,7 ± 37,2	103,6 ± 36,0	0,122 ^b	91,5 ± 36,7	106,7 ± 35,5	0,008 ^b
Triglicérides (mg/dL)	99,5 (69,3-141,4)	116,8 (72-153)	0,994 ^c	95,4 (68,1-141,4)	94,8 (72,6-153)	0,745 ^c	104,5 (70,6-147,3)	91,8 (71,1-144,1)	0,378 ^c

^aTeste de qui-quadrado; ^bTeste t não pareado; ^cTeste de Mann-Whitney. *Teste Exato de Fisher. Dados apresentados como valores medianos (intervalo interquartil entre parênteses), exceto aqueles marcados com um asterisco (*) que foram apresentados como média ± desvio padrão. Os valores de P em negrito indicam as categorias que diferem significativamente entre os grupos. ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; FA: fosfatase alcalina; GGT: gamma-glutamil transferase; HDL-c: lipoproteína de alta densidade - colesterol; INR: Razão normalizada internacional; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade - colesterol; LSN: limite superior da normalidade.

Além disso, os níveis de atividade das enzimas ALT, AST e GGT foram aproximadamente 2,5 vezes maiores no grupo com enzimas alteradas, e com as variáveis idade, bilirrubina total, fosfatase alcalina (apenas em AST e GGT) e glicose apresentando valores maiores neste grupo. No entanto, os níveis de albumina em pacientes apenas com AST e GGT elevadas, LDL-c (apenas em GGT) e contagem de plaquetas (apenas em ALT e AST) foram ligeiramente maiores no grupo com enzimas normais.

A Figura 1 apresenta o resultado do modelo OPLS-DA construído para identificar alteração na atividade da enzima ALT, enquanto a Figura 2 apresenta o resultado do modelo considerando atividade da enzima AST elevada e normal. Os gráficos de escores da OPLS-DA para os dois modelos (Figura 1A e 2A) mostram clara discriminação entre os grupos (ALT elevada *versus* normal; AST elevada *versus* normal). O modelo para avaliar alteração na atividade da GGT apresentou resultados mais discretos para a discriminação, embora estatisticamente significativos.

Figura 1: Resultado do modelo OPLS-DA – ALT elevada x normal, em 203 infectados pelo HBV ou HCV, em Recife/PE, no período de 2014 a 2016. (A) Gráfico de escores; (B) Gráfico de importância das componentes principais; (C) Gráfico de pesos das componentes principais selecionadas

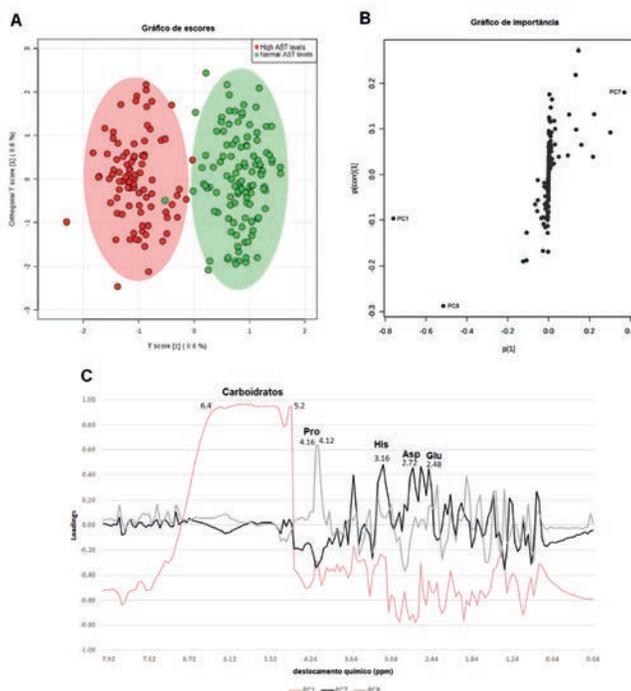


Legenda: Asp: aspartato; Glu: glutamato; HDL: lipoproteína de alta densidade; His: Histidina; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; Pro: prolina.

A Figura 1B indica que a discriminação observada pode ser atribuída às componentes principais PC1, PC3 e PC7. A PC1 foi influenciada fortemente pela região espectral entre δ 5,2 e 6,4 ppm, a qual é atribuída a carboidratos e espécies insaturadas. As variáveis mais relevantes para PC3 foram os sinais em δ 0,8 e 1,2 ppm, ambos atribuídos a grupos metilas e metilenos de cadeia carbônica de lipoproteínas, como HDL e LDL, e o sinal em δ 2.0 ppm, atribuído à prolina. Em PC7, destacam-se o sinal em δ 3,16 ppm, assinalado à histidina, e a região entre δ 2,48 e 2,72 ppm, associada à glutamina e ao ácido N-acetilaspártico, um derivado do ácido aspártico (Figura 1C).

No modelo AST, a discriminação está associada à PC1, PC7 e PC8 (Figura 2B), sendo identificada forte contribuição da região associada a carboidratos e espécies insaturadas (δ 5,2 e 6,4 ppm), em PC1; aminoácidos (δ 3,16 ppm, δ 2,48-2,72 ppm), em PC7. Em PC8, os sinais entre δ 4,12-4,16 ppm foram associados à prolina e ao 3-hidroxi-butirato (Figura 2C).

Figura 2: Resultado do modelo OPLS-DA – AST elevada e normal, em 203 infectados pelo HBV ou HCV, em Recife/PE, no período de 2014 a 2016. (A) Gráfico de escores; (B) Gráfico de importância das componentes principais; (C) Gráfico de pesos das componentes principais



Legenda: Asp: aspartato; Glu: glutamato; His: Histidina; Pro: prolina.

A Tabela 2 mostra a matriz de classificação dos modelos OPLS-DA. Para o modelo comparando a atividade das enzimas hepáticas elevadas e normais, esta classificação apresentou melhor desempenho para o modelo AST com Sn de 95,5%, Sp de 96,5%, valores de LR+ e LR- de 27,2 e 0,05, respectivamente, indicando que a chance de o modelo detectar corretamente a alteração da AST é 27,2 vezes maior que nos pacientes com AST normal, com uma probabilidade de 96,4% de identificar a alteração pós teste. Seguido pelo modelo ALT, com Sn de 95,4%, Sp de 93,9%, LR+ de 15,7 e LR- de 0,05. O modelo GGT apresentou Sn de 90,8%, Sp 95,2%, LR+ de 19,1 e LR- de 0,09.

Tabela 2: Desempenho dos modelos metabonômicos OPLS-DA para identificar níveis séricos elevados das enzimas ALT, AST e GGT em pacientes com infecção crônica pelo HBV ou HCV, em Recife/PE, no período de 2014 a 2016

Matrizes de Contingência		Valor de p*	Sensibilidade (IC _{95%})	Especificidade (IC _{95%})	LR+ (IC _{95%})	LR- (IC _{95%})	Acurácia	
ALT > LSN ALT ≤ LSN								
ALT > LSN	84	7	<	95,4%	93,9%	15,7	0,05	94,6%
ALT ≤ LSN	4	108	0,001	(88,8% – 98,8%)	(87,9% – 97,5%)	(7,6 – 32,2)	(0,02 – 0,13)	
AST > LSN AST ≤ LSN								
AST > LSN	85	4	<	95,5%	96,5%	27,2	0,05	96,1%
AST ≤ LSN	4	110	<0,001	(88,9% – 98,8%)	(91,3% – 99%)	(10,4 – 71,3)	(0,02 – 0,12)	
GGT > LSN GGT ≤ LSN								
GGT > LSN	89	5	<	90,8%	95,2%	19,1	0,09	93,1%
GGT ≤ LSN	9	100	<0,001	(83,3% – 95,7%)	(89,2% – 98,4%)	(8,1 – 45)	(0,05 – 0,18)	

*Teste Exato de Fisher; LR+: Razão de verossimilhança positiva; LR-: Razão de verossimilhança negativa.

4. DISCUSSÃO

Os pacientes com níveis séricos aumentados de atividade das enzimas ALT, AST e GGT apresentavam idade mais avançada e, de uma forma geral, apresentaram níveis mais elevados em alguns testes de avaliação hepática e também de glicose, quando comparados aos pacientes com atividade enzimática normal. Godoy *et al.* (2010) em estudo piloto utilizando espectroscopia de RMN de ¹H em amostras de urina, conseguiram realizar o diagnóstico de infecção pelo HCV. Contudo, naquele estudo, não foi investigado se o diagnóstico dos infectados foi decorrente da agressão hepática, em função dos níveis séricos mais elevados das enzimas AST, ALT e GGT, ou da presença do próprio HCV ou ainda da resposta imune induzida pelo vírus (GODOY *et al.*,2010).

Os três modelos OPLS-DA construídos no presente estudo foram capazes de discriminar pacientes com alteração na atividade das enzimas hepáticas, independentemente do tipo de vírus (HBV ou HCV) relacionado à infecção, ainda que os modelos ALT e AST tenham apresentado melhores resultados quando comparados ao modelo GGT. Esses achados sugerem que o diagnóstico da infecção obtido no estudo de Godoy *et al.* (2010) deva

ser decorrente das alterações enzimáticas nos infectados.

Embora a GGT seja encontrada no fígado e nas células epiteliais biliares, é considerada um marcador mais sensível para doenças das vias biliares ou agressões determinadas pelo uso de álcool ou outras drogas, e não por vírus (PRATT; KAPLAN, 2000). Porém, os níveis de GGT podem ser encontrados acima do limite superior em cerca de 30% dos pacientes com infecção crônica pelo HCV (GIANNINI *et al.*, 2005) e há uma variedade de isoformas da GGT que diferem no conteúdo e na estrutura dos carboidratos com especificidade diferenciada no diagnóstico de doenças hepáticas (FORNACIARI *et al.*, 2014).

Para os modelos ALT e AST, observou-se que as amostras de pacientes com aumento da atividade das enzimas hepáticas apresentaram escores negativos na OPLS-DA, com PC1 como a componente mais importante na discriminação. Além disso, para o modelo ALT, PC3 e PC7 também se mostraram relevantes. Em PC1, os deslocamentos químicos mais importantes encontraram-se associados a carboidratos e espécies insaturadas (δ 5,2 e 6,4 ppm), enquanto em PC3, os sinais centrados em δ 0,8 e 1,2 ppm foram atribuídos aos grupos metílicos e metilenos de lipoproteínas (HDL e LDL).

Assim, o aumento da concentração de carboidratos e espécies insaturadas resultaram em aumento dos escores de PC1 e conseqüentemente, em escores negativos na OPLS-DA, levando a amostra a ser classificada no grupo com aumento da atividade da ALT. No entanto, concentrações elevadas de HDL, LDL, aminoácidos e espécies insaturadas e aromáticas resultaram em aumento dos escores de PC3, PC7 e PC2 e escores positivos na OPLS-DA, o que levou a amostra a ser classificada no grupo com atividade normal da ALT.

Portanto, os pacientes com alteração da atividade da ALT apresentaram maiores níveis séricos de carboidratos e menores níveis de HDL e LDL, aminoácidos e espécies insaturadas e aromáticas, quando comparados ao grupo com atividade normal da ALT. Esse resultado corrobora as características bioquímicas apresentadas na Tabela 1, uma vez que os pacientes com atividade elevada da ALT apresentaram aumento nos níveis de glicose e níveis mais baixos de LDL. Ainda que os níveis de LDL não tenham apresentado diferença estatisticamente significativa, foram suficientes para serem observados na discriminação dos modelos metabonômicos.

Em relação ao modelo AST, PC7 e PC8 também apresentaram importância na discriminação. Semelhante ao modelo ALT, observou-se influência da presença de carboidratos e espécies insaturadas na PC1 (δ 5,2 e 6,4 ppm) para o grupo com AST alterada, e dos aminoácidos histidina (δ 3,16 ppm), glutamina (δ 3,16 ppm) e do ácido N-acetilaspártico (δ 2,72 ppm) em PC7.

Além disso, tanto o aumento das concentrações de prolina e

3-hidroxiubutirato em PC8, no modelo AST, quanto de treonina em PC4, resultaram em escores negativos na OPLS-DA, levando a amostra a ser classificada no grupo com aumento da atividade da AST. No entanto, concentrações reduzidas do aminoácido lisina resultaram em um aumento do escore de PC6, enquanto concentrações elevadas de histidina, glutamina e ácido N-acetilaspártico resultaram em aumento do escore de PC7, e consequentemente escores positivos na OPLS-DA, o que levaram a amostra a ser classificada no grupo com AST normal.

Portanto, os pacientes com alteração da atividade da AST apresentaram maiores níveis séricos de carboidratos e dos aminoácidos prolina, aspartato, valina, arginina; e menores níveis séricos para histidina, glutamina e ácido N-acetilaspártico, quando comparados ao grupo com atividade normal da AST. Esse resultado corrobora as características bioquímicas apresentadas na Tabela 1, desde que os pacientes com atividade alterada da AST apresentaram aumento nos níveis de glicose.

Sands *et al.* (2015) utilizando modelos de RMN de ^1H em amostras de pacientes com hepatite C crônica, observaram que indivíduos com fibrose significativa e avançada apresentaram maiores de níveis de atividade das enzimas ALT e AST. Além disso, o aumento da gravidade da fibrose foi associado com maiores níveis de citrato, e dos aminoácidos aromáticos tirosina e fenilalanina, e ainda de metionina, enquanto menores níveis de creatina, LDL, fosfatidilcolina e N-acetil- α 1-ácido-glicoproteína foram observados nestes grupos (SANDS *et al.*,2015). De forma semelhante, identificamos no presente estudo maiores níveis de carboidratos, e menores níveis de colesterol HDL e LDL nos pacientes com atividade das enzimas hepáticas elevada, no entanto menores níveis de espécies insaturadas e aromáticas nesse grupo.

Embade *et al.* (2016) em estudo semelhante com espectroscopia de RMN de ^1H para distinguir pacientes com cirrose e sem fibrose por HCV, identificaram alterações no metabolismo de aminoácidos, lipídios e carboidratos. Pacientes com cirrose induzida pelo HCV apresentaram maiores de níveis de atividade das enzimas ALT, AST e GGT, e níveis reduzidos de colina, acetoacetato, LDL, glutamina/glutamato, carboidratos e lipídios, enquanto o grupo controle, apresentou maiores níveis de creatinina e creatina (EMBADE *et al.*,2016). Em nosso estudo, também foram identificados menores níveis de glutamina e de lipídios, no entanto, com menores níveis de carboidratos nesse grupo.

Os modelos metabonômicos usando como matriz-resposta a atividade das enzimas AST e ALT resultaram em melhores figuras de mérito que o equivalente usando a atividade da enzima GGT. Isso pode ser explicado pelo fato de que existem duas isoformas humanas da ALT e AST, uma citoplasmática e outra mitocondrial, com papel biológico divergente no contexto da patogênese aguda ou crônica da doença hepática. No fígado, a ALT é predominante citoplasmática, sendo associada a danos menos

intensos nos hepatócitos, como é caso da maior parte dos pacientes com infecção crônica pelo HBV avaliados neste estudo, que se encontravam na fase de portador inativo, com HBeAg não reagente, níveis normais de ALT, e HBV-DNA inferiores a 2000 UI/mL. A AST, no entanto, encontra-se localizada principalmente na mitocôndria, indicando uma lesão mais intensa dos hepatócitos associada à agressão mitocondrial, como as que ocorrem nas infecções crônicas ativas pelo HCV (BOTROS; SIKARIS, 2013; SOOKOIAN, 2015).

Outrossim, os ensaios clínicos para tratamento de pacientes infectados pelo HBV utilizam os LSN da ALT como critério para indicar tratamento, e geralmente requerem uma elevação da ALT de 1,3-2,0 vezes o LSN (TERRAULT *et al.*,2015). No entanto, ainda que o aumento da atividade necroinflamatória e níveis mais elevados de ALT estejam associados à necrose e regeneração, alguns estudos mostram que a necroinflamação, com conseqüente indução da fibrose, podem não propiciar o aumento da ALT em muitos pacientes com hepatite crônica pelo HBV. Assim, estes pacientes não estariam elegíveis para tratamento antiviral (ZHENG *et al.*,2017). Assim, a interpretação acadêmica de causa e “gravidade” da lesão hepática com base na normalidade da atividade enzimática, às vezes pode ser enganosa, devido ao ponto de corte elevado do LSN (GIANNINI *et al.*,2005).

Ainda que não tenham estudos na literatura avaliando a utilização da metabonômica na avaliação da atividade das enzimas hepática, alguns autores buscaram avaliar pacientes com hepatite B e C crônica buscando novos biomarcadores sensíveis e específicos, principalmente envolvendo o metabolismo energético, e de proteínas e lipídios. Mostrando-se necessário um número maior de estudos clínicos para avaliar esses novos marcadores (ZHENG *et al.*,2017).

Assim, os modelos metabonômicos construídos neste estudo foram capazes de, com um único espectro de RMN de ^1H do soro, distinguir pacientes com e sem alterações da atividade sérica da AST e da ALT decorrentes da infecção crônica pelo HBV ou HCV. Além disso, foi possível indicar a classe de compostos (metabólitos) associada à discriminação, mostrando assim mais uma potencial aplicação da estratégia metabonômica na prática clínica, permitindo uma análise mais profunda do processo de investigação da doença hepática desses pacientes.

REFERÊNCIAS

BALOG, C. I. A *et al.* Metabonomic investigation of human *Schistosoma mansoni* infection. **Molecular BioSystems**, v. 7, n. 5, p. 1473-1480, 2011.

BATISTA, A. D. *et al.* Proton nuclear magnetic resonance-based metabonomic models for non-invasive diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C: Optimizing the classification of intermediate fibrosis. **World Journal of Hepatology**, v. 10, n. 1, p.

105–115, 2018.

EMBADE, N. *et al.* Metabolic characterization of advanced liver fibrosis in HCV patients as studied by serum ¹H-NMR spectroscopy. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. 1-19, 2016.

FORNACIARI, I. *et al.* Gamma-glutamyltransferase fractions in human plasma and bile: Characteristic and biogenesis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. 2-8, 2014.

GIANNINI, E. G.; TESTA, R.; SAVARINO, V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. **Canadian Medical Association Journal**, v. 172, n. 3, p. 367-379, 2005.

GILANY, K. *et al.* Metabolomics analysis of the saliva in patients with chronic hepatitis b using nuclear magnetic resonance: A pilot study. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 22, n. 9, p. 1044-1049, 2019.

GODOY, M. M. G. *et al.* Hepatitis C virus infection diagnosis using metabolomics. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 17, p. 854-858, 2010.

GOUVEIA, L. R. *et al.* Diagnosis of coinfection by schistosomiasis and viral hepatitis B or C using ¹H NMR-based metabolomics. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, p. e0182196, 2017.

HOU, Q.; DUAN, Z. J. Metabonomic window into hepatitis B virus-related hepatic diseases. **World Journal of Hepatology**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2016.

LOPES, E. P. A. *et al.* Determination of the cut-off value of serum alanine aminotransferase in patients undergoing hemodialysis, to identify biochemical activity in patients with hepatitis C viremia. **Journal of Clinical Virology**, v. 35, n. 3, p. 298-302, mar. 2006.

MEONI, G. *et al.* The metabolic fingerprints of HCV and HBV infections studied by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2019.

NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C.; HOLMES, E. "Metabonomics": understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. **Xenobiotica**, v. 29, n. 11, p. 1181-1189, nov. 1999.

NICHOLSON, J. K. *et al.* Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. **Nature Reviews**, v. 1, p. 153-161, 2002.

PRATT, D. S.; KAPLAN, M. M. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. **The New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 17, p. 1266-1271, 2000.

SACKETT, D. L.; HAYNES, R. B. Evidence base of clinical diagnosis: the architecture of diagnostic research. **British Medical Journal**, v. 324, p. 539-541, 2002.

SANDS, C. J. *et al.* Metabolic phenotyping for enhanced mechanistic stratification of

chronic hepatitis C-induced liver fibrosis. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 110, n. 1, p. 159-69, 2015.

SHANMUGANATHAN, M. *et al.* A Cross-Platform Metabolomics Comparison Identifies Serum Metabolite Signatures of Liver Fibrosis Progression in Chronic Hepatitis C Patients. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, n. August, p. 1-15, 2021.

SOOKOIAN, S.; PIROLA, C. J. Liver enzymes, metabolomics and genome-wide association studies: From systems biology to the personalized medicine. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 213, p. 711-725, 2015.

TERRAULT, N. A. *et al.* AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. **Hepatology**, v. 63, n. 1, p. 261-283, 2015.

VAN BEEK, J. H. D. A. *et al.* The genetic architecture of liver enzyme levels: GGT, ALT and AST. **Behavior Genetics**, v. 43, n. 4, p. 329-339, 2013.

VERSLYPE, C. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. **Acta Clinica Belgica**, v. 59, n. 5, p. 285-289, 2004.

WANG, X. *et al.* Urinary metabolite variation is associated with pathological progression of the post-hepatitis B cirrhosis patients. **Journal of Proteome Research**, v. 11, n. 7, p. 3838-3847, 2012.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on Hepatitis B and C Testing**. Geneva: World Health Organization, 2017.

WISHART, D. S. *et al.* HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. **Nucleic Acids Research**, v. 37, n. Database issue, p. D603-D610, 2009.

XIA, J.; WISHART, D. S. Using metaboanalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 55, n. 14, p. 14.10.1-14.10.91, 2016.

ZHENG, H. *et al.* Metabolic characterization of hepatitis B virus-related liver cirrhosis using NMR-based serum metabolomics. **Metabolomics**, v. 13, n. 10, p. 1-9, 2017.

IDENTIFICATION OF LIVER ENZYMES ACTIVITY ALTERATIONS IN HBV OR HCV INFECTED PATIENTS BY ¹H-NMR BASED METABONOMICS

ABSTRACT - The aim of this study was to identify liver enzymes (ALT, AST and GGT) activity alterations due to hepatitis B virus (HBV) or C (HCV) infection, in a single serum sample, through hydrogen Nuclear Magnetic Resonance (¹H-NMR)-based metabolomics models. This study included 203 adult patients previously diagnosed with HBV (n=117) or HCV (n=86) mono-infection. ¹H-NMR spectra were measured on a Varian Unity Plus 300 MHz spectrometer and liver function tests were carried out using a kinetic enzymatic method, applied as gold standard. The models were based on Orthogonal Partial Least Squares - Discriminant Analysis (OPLS-DA) using

MetaboAnalyst 3.6 data platform. Three OPLS-DA models were built to discriminate patients with increased liver enzyme activity, regardless the type of virus related to the infection: (1) ALT; (2) AST; and (3) GGT. The ALT model showed sensitivity (Sn) of 95.4%, specificity (Sp) of 93.9% with higher serum levels of carbohydrates and lower levels of HDL and LDL, amino acids and aromatic and unsaturated species for the elevated ALT group. Similar accuracy was found for the AST model, with Sn=95.5%, Sp=96.5%, and high AST activity also associated with increased carbohydrates concentration and lower amino acids levels. For the GGT model the results were less satisfactory. Therefore, the models built could identify AST and ALT activity alterations and the classes of compounds associated with discrimination, using a single $^1\text{H-NMR}$ spectra. It represents a further application of the metabonomics strategy to assess liver disease in these patients.

KEYWORDS: Liver enzymes; Metabolomics; Proton Magnetic Resonance Spectroscopy.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abuso 69, 87, 95
Aguda 9, 11, 37-51, 53, 54, 63, 98, 135
Álcool 9, 11, 22, 39, 66-79, 87, 88, 95, 134
Alcoolismo 67, 73, 74, 76-78, 87, 88
Análise 10, 21-23, 28-30, 39-41, 52, 57, 58, 70, 74, 78, 86, 100, 101, 111, 113, 114, 118, 119, 125-129, 136
Animais 18, 19, 21, 37-39, 52, 55, 56, 58-60, 81, 89, 90, 97, 99, 104, 105, 114, 122
Anormalidades 104
Ansiedade 83-85
Antagonismo 98, 104
Atividade 9, 10, 12, 15, 18, 39, 52-55, 57, 58, 60-63, 83, 87, 98, 100, 102, 111-113, 118, 122, 124-139
Avaliação 9, 18, 24, 34, 56-58, 81, 90, 113, 120, 125, 127, 129, 130, 133, 136

B

Bidirecional 88, 89, 98, 99, 105
Biológico 17, 82, 98, 118, 135

C

Cardíaca 9, 11, 52-65
Cardioprotetor 9, 11, 52-65
Carga 15, 27
Carvacrol 9, 11, 52-65
Celular 23, 30, 37-40, 43-45, 47-49, 53, 54, 59, 60, 89, 99, 100
Ciclodextrina 54, 63
Ciência 9, 17, 26, 36, 63, 68, 112,

127

Cimento 9, 11, 13-36
Cimmo 18, 24, 34
Cinzenta 104
Cirúrgico 9, 16, 19, 53, 84, 85, 90
Comorbidades 9, 12, 79-97, 99, 103-105
Complexação 55, 62
Complexo 11, 52-65, 86, 87, 103
Compostos 10, 15, 28, 54, 125, 128, 136
Comuns 9, 81, 89, 90, 105
Conectividade 97, 101-103
Conectômica 100
Coração 52, 56, 57, 60-62
Crônica 10, 12, 63, 82, 124-139
Cultura 39

D

Dentário 9, 15, 17, 18, 28
Dependência 9, 61, 67-70, 73, 74, 76, 78, 87, 88, 95
Depressão 80-84, 88-90, 98, 102, 103
Desempenho 10, 10, 52, 72, 111, 113-115, 118, 129, 133
Dimensão 57, 62
Dismutase 52, 57, 60, 64

E

Efeito 9, 11, 24, 34, 37-39, 44, 46, 48, 49, 52-65, 68, 77, 82, 83, 85, 88, 90, 99, 100, 122
Elétrico 20, 21, 89-100
Endo-Óssea 15, 28
Entrevista 68, 72, 74, 76, 81, 82, 115

- Enxertos 15
- Enzima 9, 10, 12, 52, 55, 57, 58, 60-63, 124-139
- Epidemiologia 81, 121
- Epilepsia 9, 10, 12, 80-101, 103-109
- Específicos 55, 83, 88, 136
- Espectroscopia 81, 86, 124-126, 133, 135
- Estresse 55, 63, 89, 100
- Estruturais 82, 88, 89, 101, 102, 104
- Estudo 9-11, 13-38, 47, 52, 56, 60, 62, 63, 67, 69-79, 81-90, 95, 97, 98, 100-105, 112-114, 117-120, 124, 126, 127, 133, 135, 136
- Exames 101, 104, 119, 125, 127, 129, 130
- Experimental 11, 13-36, 38, 45, 49, 56, 89, 90, 93, 99, 108, 109, 111, 113, 114, 115, 123
- F**
- Falhas 9, 11, 13-36
- Família 54, 61, 68, 74-77, 82, 119
- Farmacêutica 9, 55, 62, 63
- Farmacológico 9, 89, 90, 98-100
- Fatores 9, 16, 24, 34, 38, 67-69, 75, 77, 82, 83, 85, 86, 98, 120, 126
- Fenômenos 80, 87, 97, 98, 104, 105
- Fibrose 38, 126, 135, 136
- Fisiopatológicos 9, 81, 89, 90, 98, 100, 105, 126
- Forçada 9, 12, 81, 86, 97-109
- Funcional 15, 38, 75, 81, 97, 101, 102, 123
- G**
- Glutationa 52, 58, 61
- Guiada 15, 28
- H**
- Hepáticas 10, 12, 124-139
- Hepatite 10, 12, 121, 124-139
- Hepatócitos 9, 37, 38, 43, 45, 48, 62, 125, 126, 136
- Hidrogênio 10, 54, 58, 124-126
- Hipometabolismo 83, 84
- Histológicos 40
- Humanos 89, 90, 105, 126, 127
- Humor 80, 83-85, 103, 105
- I**
- Imediata 14-16, 27, 33, 39, 58, 59, 102, 127
- Implante 14-16, 18, 20, 21, 23-25, 27, 28, 31, 33-35
- Inclusão 11, 18, 22, 52-65, 113, 114
- Infartada 57, 62
- Infarto 9, 52, 53, 57, 59, 62, 63, 88
- Infecção 10, 12, 112, 114, 118, 121, 122, 124-139
- Inorgânicos 15, 28
- Isolado 56, 60, 63
- Isquêmica 53, 55, 59
- K**
- Kindling 86, 89, 90, 94, 97-100, 105, 106, 108, 109
- L**
- Laboratoriais 127
- Lesão 9, 11, 17, 23, 37-65, 105, 136
- Límbico 82, 97, 100-102, 104, 105
- Lipoproteínas 132, 134
- Lobo 81, 84-86, 97, 99, 101-103, 105

M

Magnética 10, 81, 101, 102, 124-126
Matéria 15, 17, 21, 24-26, 34-36, 38, 55, 104, 119
Mecanismo 10, 47-49, 80-82, 86, 87, 89, 90, 97-101, 105
Metabólitos 126
Metabonômica 10, 12, 124-139
Métodos 14, 18, 27, 38, 40, 54, 55, 62, 69, 81, 98, 99, 127
MicroRNA 9, 11, 37-51
Miocárdio 53, 59, 62
Motivação 69, 71, 72, 75-77, 79

N

Necroinflamatória 136
Neurodegenerativa 104
Neurologia 9, 11, 12, 80, 90, 97-109
Neuronais 82, 97, 99, 100, 105, 112
Normalização 9, 12, 43, 47, 81, 86, 97-109

O

Ósseas 9, 11, 13-36
Oxidativo 9, 53, 55, 63

P

Padrões 19, 71, 102
Papel 9, 11, 37-51, 73, 74, 88, 89, 100, 105, 119, 135
PBS 9, 11, 13-36, 58
Perfusão 56, 57
Periodontal 15, 18, 26, 28, 36
Peroxidase 52, 58, 61, 63, 64
Preenchimento 9, 11, 13-36, 70
Prevalência 53, 73, 74, 81, 82, 85-87, 95, 129
Prontidão 9, 11, 66-79

Proteína 37, 44, 46, 58, 60, 62, 136

Protocolo 19, 21, 53, 56

Psicóticos 10, 81, 86, 87, 97-99, 104, 105

Psiquiatria 9, 11, 12, 77, 78, 80, 90, 97-109

Psiquiátricas 9, 12, 80-97, 103-105

Q

Químicos 11, 66-79, 134

R

Rabdomiólise 37, 38, 45, 46, 49

Ratos 11, 13-38, 52, 53, 55, 62, 63, 89

Recompensa 101, 102

Reencontro 12, 97-109

Regeneração 15, 18, 28, 38, 136

Renal 9, 11, 37-51

Reparo 9, 11, 23, 24, 30, 32, 34, 37-51

Reperfusão 9, 11, 52-65

Repouso 10, 97, 101, 102, 105

Ressonância 10, 81, 101, 102, 124-126

Revascularização 53

Risco 77, 82, 83, 85, 86, 88, 89, 120

S

Sintomas 10, 82, 84-87, 97-99, 102, 104, 105

Sistema 7, 10, 52-54, 56, 57, 75, 82, 86-88, 97, 98, 100-102, 104, 111, 112, 121, 123, 126

Substâncias 54, 68, 73, 76, 78, 79, 87, 89, 112

Substitutos 15, 16, 28

Superóxido 57, 60

T

Tecidual 9, 15, 28, 37, 40, 42

Temporal 81, 84-86, 88, 90, 92-101, 103-109

Transtornos 9, 68, 73, 80-90, 98, 103-105

V

Vírus 10, 12, 110-139

SOBRE A ORGANIZADORA

Marcia Alessandra Arantes Marques

Possui graduação em Medicina e residência em Clínica Médica, ambos pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Residência Médica em Reumatologia pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) com atuação em densitometria óssea pelo Colégio Brasileiro de Radiologia (CBR). Mestrado em Plantas Medicinais e Fitoterápicos pela Universidade Paranaense (UNIPAR). Professora do Curso de Medicina da UNIPAR. Exerce a função de Médica Reumatologista e orientadora da Pós-Graduação em Residência Médica - Clínica Médica.



Avanços Científicos em Medicina 2

www.bookerfield.com



contato@bookerfield.com



[@bookerfield](https://www.instagram.com/bookerfield)



Bookerfield Editora





Avanços Científicos em Medicina 2

www.bookerfield.com



contato@bookerfield.com



[@bookerfield](https://www.instagram.com/bookerfield)



Bookerfield Editora



ISBN 978-658992935-2



9

786589

929352