

ISSN 1809-0273

PUBLICATIO UEPG

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

ANO 28 NÚMERO 1
JANEIRO/JUNHO 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA/PONTA GROSSA STATE UNIVERSITY

REITOR/PRESIDENT

Miguel Sanches Neto

PRÓ-REITOR DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO/DEAN OF RESEARCH AND GRADUATE STUDIES

Giovani Marino Favero

DIRETORIA DE DIVISÃO DE PESQUISA/RESEARCH OFFICE DIRECTOR

Rodrigo Rodrigues Matiello

EDITORA UEPG

UEPG Publishing house

EDITOR/EDITOR

Beatriz Gomes Nadal

ISSN 1809-0273

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PONTA GROSSA STATE UNIVERSITY

PUBLICATIO UEPG

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

BIOLOGICAL AND HEALTH SCIENCES



Copyright by Editora UEPG

Editor da Revista/Editor-in-chief: Marcia Helena Appel

Editoração eletrônica/Eletronic editoration: Marco Wrobel

Corpo de consultores/Editorial board

Airton Vicente Pereira (UEPG-PR)

Alessandro Dourado Loguercio (UEPG-PR)

Alessandro Leite Cavalcanti (UEPB-PB)

Alessandra Reis (UEPG-PR)

Alberto José Prioli (UEM-PR)

Ana Maria Gealh (UEPG-PR)

André Luiz Lux Klein (UNIPAR-PR)

Andrea Maria T. Fortes (UNIOESTE-PR)

Andresa Carla Obici (UNIPAR-PR)

Antonio Carlos Frasson (UEPG-PR)

Antônio Edgar Krölling (UEPG-PR)

Antonio F. Nascimento Jr. (UNIPAR-PR)

Antonio Lucindo Bengtson (UNIMES-SP)

Armando Carlos Cervi (UFPR-PR)

Carla Cristine Kanunfre (UEPG-PR)

Célia Maria Da Lozzo Lopes (UEPG-PR)

Célia Regina Cavichiolo Franco (UFPR-PR)

Cesar Roberto Busato (UEPG-PR)

Ciro Cesar Z. Branco (UNICENTRO-PR)

Dalva Cassie Rocha (UEPG-PR)

Dartagnan Pinto Guedes (UEM-PR)

Durvanei Augusto Maria (Instituto Butantan)

Dorly de Freitas Buchi (UFPR-PR)

Eduardo Campagnoli (UEPG)

Elida Mara Leite Rabelo (UFMG-MG)

Elizabeth Brasil dos Santos (UEPG-PR)

Elizabeth Orika Ono (UNESP-SP)

Estela Maria Novak (Pró-Sangue / FMUSP)

Fábio André dos Santos (UEPG-PR)

Fernando José Zara (UNESP-SP)

Francine Lorena Cuquel (UFPR-PR)

Francisco Fanucchi Neto (UEPG-PR)

Gibson Luiz Pilatti (UEPG-PR)

Giovani Marino Fávero (UEPG-PR)

Gislaine Denise Czlusniak (UEPG-PR)

Hidevaldo Bueno Machado (UCLA-USA)

Hilda Ferreira Cardozo (USP-SP)

Ivana de Freitas Barbola (UEPG-PR)

João Carlos Gomes (UEPG-PR)

João Domingos Rodrigues (UNESP-SP)

João Lucio Azevedo (ESALQ-SP)

Jocélia Lago Jansen (UEPG-PR)

Jorge Iulek (UEPG-PR)

José Carlos Pettorossi Imparato (USP-SP)

José Pereti Neto (UEL-PR)

Leila M.C.de Oliveira (UNIGRANRIO-RJ)

Luciana Maria Borba (UEPG-PR)

Lúcio Frigo (UNICSUL)

Luís Antônio Esmerino (UEPG-PR)

Luís Eduardo Aranha Camargo (USP-SP)

Luiz Alberto Pilatti (UTFPR-PR)

Luiz Antonio Carlos Bertollo (UFSCar-SP)

Luiz Antônio Fávero Filho (UFRB-BA)

Luís Francisco A. Alves (UNIOESTE-PR)

Luiz Gonzaga Estes Vieira (IAPAR-PR)

Mara Cristina de A. Matiello (UEPG-PR)

Marcia Cançado Figueiredo (UFRGS-RS)

Marcia Helena Baldani Pinto (UEPG-PR)

Marcia Regina Paes de Oliveira (UEPG-PR)

Marcio Grama Hoepfner (UNIPAR-PR)

Marcos Pileggi (UEPG-PR)

Marguerite Germaine Ghislaine (UFPR-PR)

Maria Albertina de Miranda Soares (UEPG-PR)

Maria Aparecida Fernandez (UEM-PR)

Maria Cláudia C. Ruvalo Takasusuki (UEM-PR)

Maria Dagmar da Rocha Gaspar (UEPG-PR)

Maria de Lourdes A. Massara (UFMG-MG)

Mario Francisco Real Gabrielli (UNESP-SP)

Maurício Zardo (UEPG-PR)

Melissa Koch Fernandes de Souza (UEPG-PR)

Nara Helen Campanha (UEPG-PR)

Nelson Barros Colauto (UNIPAR-PR)

Oscar Akio Shibatta (UEL-PR)

Osnara Maria Mongruel Gomes (UEPG-PR)

Ricardo Antunes Azevedo (USP-SP)

Ricardo Zanetti Gomes (CESCAGE-PR)

Ricardo Monezi Julião de Oliveira (PUC-SP / UNIFESP)

Roberto Ferreira Artoni (UEPG-PR)

Rosângela Capuano Tardivo (UEPG-PR)

Rosemeri Segecin Moro (UEPG-PR)

Saul Martins de Paiva (UFMG-MG)

Sigmar de Mello Rode (UNESP-SP)

Silvio Issao Myaki (UNESP-SP)

Sinvaldo Baglie (UEPG-PR)

Sônia Alvim Veiga Pileggi (UEPG-PR)

Stella Kossatz Pereira (UEPG-PR)

Sueli de Almeida Cardoso (UNIPAR-PR)

Thelma Alvim Veiga Ludwig (UFPR-PR)

Thereza C. Monteiro de L. Nogueira (UFSC-SC)

Ulisses Coelho (UEPG-PR)

Valdir Cechinel Filho (UNIVALI-SC)

Vera Lúcia Bosco (UFSC-SC)

Vitoldo Kozłowski Júnior (UEPG-PR)

Wellington Luiz de Araújo (UMC-SP)

PUBLICATIO UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde / PUBLICATIO UEPG: Biological and Health Sciences Ponta Grossa: Editora UEPG, 1995-1995/2022, (1)28

semestral

Até v. 8, n. 2, 2002, publicada anualmente.

ISSN 1676-8485 - impresso

ISSN 1809-0273 - versão eletrônica

CCN 095309-1

Os textos publicados na revista são de inteira responsabilidade de seus autores.

REVISTA INDEXADA EM:

GeoDados <<http://geodados.pg.uffpr.edu.br>>

Sumários de Revistas Brasileiras da FUNPEC-RP <www.sumarios.org>

Índices de Revistas Latinoamericanas em Ciências Periódica, da Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM <dgb.unam.mx/periodica.html>

Base de Dados do Acervo de Bibliotecas do Paraná

SUMÁRIO / SUMMARY

DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE POR IMAGEM: REVISÃO DE LITERATURA.6
DIAGNOSIS OF CARIES LESIONS: LITERATURE REVIEW.

- Gabriella Mazzarolo, Eliane Maria Kreich, Ângela Fernandes e Thays Regina Ferreira da Costa

ALTERAÇÕES INTESTINAIS INFLAMATÓRIAS DO ESTRESSE OXIDATIVO NA SÍNDROME DA HIPERTENSÃO PORTAL: AÇÃO DA GLUTAMINA22

INFLAMMATORY BOWEL AND OXIDATIVE STRESS CHANGES IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF PORTAL HYPERTENSION: ACTION GLUTAMINE

- Ariane Tainá da Silva, Rebeca Loureiro Rebouças, Francielli Licks, Henrique Fillmann e Norma Anair Possa Marroni

A EFICÁCIA DO TREINAMENTO RESISTIDO NO CONTROLE GLICÊMICO DE INDIVÍDUOS COM DIABETES TIPO 2: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA34

THE EFFECTIVENESS OF RESISTANCE TRAINING IN GLYCEMIC CONTROL OF INDIVIDUALS WITH TYPE 2 DIABETES: A SYSTEMATIC REVIEW

- Wesley Mentz da Silva, Rafael Granemann Piola da Silva, Rosiane Guetter Mello e Camila Aparecida Moraes Marques

ESTUDO OBSERVACIONAL COM PACIENTES HOSPITALIZADOS EM TRATAMENTO COM VARFARINA45

OBSERVATIONAL STUDY WITH HOSPITALIZED PATIENTS TREATED WITH WARFARIN

- Camile Nutti e Daniel Fernandes

A RADIAÇÃO IONIZANTE COMO TECNOLOGIA PARA A INATIVAÇÃO DE VÍRUS.....62
IONIZING RADIATION AS A TECHNOLOGY FOR VIRUS INACTIVATION

- Márcio Martins de Araujo, Daili A. S. Barreira, Susyleide Gomes de Brito, Paulo de Souza Santos, Sueli Ivone Borrely e Pablo Vasquez

DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE POR IMAGEM: REVISÃO DE LITERATURA.

DIAGNOSIS OF CARIES LESIONS: LITERATURE REVIEW.

Gabriella Mazzarolo^{1*}, Eliane Maria Kreich², Ângela Fernandes³, Thays Regina Ferreira da Costa³

¹Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências da Saúde – Curitiba – Paraná – Brasil

²Universidade Estadual de Ponta Grossa – Setor de Ciências da Saúde – Departamento de Odontologia – Ponta Grossa – Paraná – Brasil

³Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências da Saúde – Departamento de Estomatologia – Curitiba – Paraná – Brasil

*Autor Correspondente: Gabriella Mazzarolo. Rua Flávio Mariano Ribas, 386 – Uberaba. CEP: 81570-040 – Curitiba. Tel.: (41) 99866-5574. E-mail: gabmazzarolo@gmail.com

RESUMO

A doença cárie apresenta diferentes fatores etiológicos e, quando instalada em seu hospedeiro, precisa ser diagnosticada rapidamente, evitando assim possíveis complicações na estrutura dentária, na saúde e na estética do paciente. Algumas regiões dentárias apresentam dificuldades para a identificação dessas lesões, o que pode resultar na necessidade de utilizar métodos associados, como exames de imagem. O objetivo deste trabalho foi revisar a literatura sobre a importância de exames imaginológicos para a complementação do diagnóstico de lesões de cárie. A radiografia convencional, o primeiro método desenvolvido, e ainda utilizado, mostra bons resultados, contudo, apresenta algumas desvantagens, como: tempo de processamento, possibilidade de erros durante o processo e necessidade de espaço físico para armazenamento. Já as radiografias digitais apresentam melhor qualidade de imagem, menor exposição aos raios X, facilidade de armazenamento e visualização, além da possibilidade de manipulação em *softwares*, resultando em maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico. Outros exames também são utilizados, como: a tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC), que não deve ser a primeira opção devido à alta exposição à radiação; a ressonância magnética (RM), que não utiliza raios X para a obtenção da imagem e tem custo elevado; a ultrassonografia de alta frequência (UAF), que apresenta ótimos resultados em diagnóstico de lesões incipientes e na avaliação de extensão e profundidade, mas é pouco utilizada; e a tomografia de coerência óptica 3D (OCT), que mostrou resultado promissor na avaliação de lesões na face oclusal, mas ainda está em desenvolvimento. Sendo assim, os exames complementares por imagem assumem um importante papel auxiliar na detecção e diagnóstico de lesões cáries.

Palavras-chave: Diagnóstico. Cárie Dental. Radiografia.

ABSTRACT

Caries disease has different etiological factors and when installed in its host, it needs to be diagnosed quickly, thus avoiding possible complications in the patient's tooth structure, health and esthetics. Some dental regions present difficulties to the identification of these lesions, which may result in the need to use associated methods, such as imaging exams. The aim of this study was to review the literature on the importance of imaging tests to complement the diagnosis of

caries lesions. Conventional radiography, the first method developed and still used, shows good results, however, it has some disadvantages, such as: processing time, possibility of errors during the process and the need for physical space for storage. Digital radiographs, on the other hand, have better image quality, less exposure to X-rays, easier storage and visualization, in addition to the possibility of manipulation in software, resulting in greater sensitivity and specificity in diagnosis. Other tests are also used, such as: cone beam computed tomography (CBCT), which should not be the first option due to high radiation exposure; magnetic resonance (MR), which does not use X-rays to obtain the image and is expensive; high-frequency ultrasonography (UAF), which has excellent results in diagnosing incipient lesions and in assessing extension and depth, but it is less used; and 3D optical coherence tomography (OCT), which showed promising results in the evaluation of lesions in the occlusal surface, but is still under development. Therefore, complementary imaging exams take an important role in the detection and diagnosis of carious lesions.

Keywords: Diagnosis. Dental Caries. Radiography.

INTRODUÇÃO

A cárie dentária não tratada em dentes permanentes foi o problema de saúde que mais afetou pessoas no mundo no ano de 2010 (KASSEBAUM *et al.*, 2015). No Brasil, de acordo com o levantamento epidemiológico de saúde bucal do Ministério da Saúde, realizado em 2010, 56% da população foi atingida pela cárie dentária naquele ano, número significativamente menor do que o encontrado no levantamento de 2003, quando os dados apontaram que 69% da população foi acometida (SILVA *et al.*, 2019). O diagnóstico precoce e preciso dessa doença pelos dentistas é essencial, e esses profissionais devem ter conhecimento profundo sobre o tema, a fim de determinar o plano de tratamento e o tipo apropriado de restauração a ser executada (OHKI *et al.*, 1994).

Entre os vários métodos para o diagnóstico da cárie, os mais utilizados na rotina clínica são a sondagem, o exame visual e o exame radiográfico (com filmes ou sensores digitais) (SENEL *et al.*, 2010). Tais métodos de diagnóstico são usados para determinar a presença da cárie e sua extensão, para monitorar o curso da progressão da doença e para avaliar a eficácia do tratamento. A esse respeito, vários estudos têm mostrado que 25–42% das lesões de cárie não são detectadas pelo exame clínico realizado sem a complementação do exame radiográfico (HAAK *et al.*, 2001; MØYSTAD *et al.*, 1996).

Atualmente, têm sido desenvolvidos os mais variados métodos de detecção das lesões, e é cada vez mais ampla a utilização de exames de imagem como recurso auxiliar para o diagnóstico e plano de tratamento (SOARES *et al.*, 2012). Dessa forma, a radiografia tem se mostrado como um método complementar fundamental para o diagnóstico das lesões, sendo também essencial tanto em áreas de difícil acesso ao exame clínico, quanto na detecção precoce das lesões (COSTA E SILVA *et al.*, 2012; BRAGA & SEABRA, 2014).

Com o avanço das tecnologias, alguns novos métodos têm sido utilizados para a detecção e diagnóstico de lesões de cárie. Entre eles, a tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) (KALATHINGAL *et al.*, 2006; PARK *et al.*, 2011; QU *et al.*, 2011; PIMENTEL *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2011), a ressonância magnética (RM) (MENDES *et al.*, 2020; TYMOFIYEVA *et al.*, 2009), a ultrassonografia de alta frequência (KOCASARAC & ANGELOPOULOS, 2019; KIM *et al.*, 2019) e, ainda, a tomografia de coerência óptica (OCT) (LUONG *et al.*, 2020). Cada método de exame por imagem apresenta suas

indicações, vantagens e desvantagens, que devem ser conhecidas para melhor indicação e solicitação, com o objetivo de auxiliar no diagnóstico.

Logo, o objetivo do presente estudo foi revisar a literatura sobre a importância dos exames imaginológicos para a complementação do diagnóstico de lesões de cárie.

REVISÃO DA LITERATURA

ETIOLOGIA E EVOLUÇÃO DA CÁRIE DENTÁRIA

A cárie é uma doença multifatorial que, na maioria dos casos, progride de forma muito lenta e pode levar até a destruição total da estrutura dentária de um indivíduo (FEJERSKOV & KIDD, 2005). Apesar de ter sofrido significativo declínio nos últimos anos, a cárie ainda é um problema de saúde bucal importante no mundo, afetando mais de 60% das crianças da população mundial (LUNARDELLI *et al.*, 2016). Seu desenvolvimento é complexo, uma associação entre características genéticas, ambientais e comportamentais, sendo influenciado por diferentes fatores que atuam ao nível da superfície dentária: por exemplo, o flúor, a dieta (tanto composição, quanto frequência), a composição da saliva, espécies microbianas e a taxa de metabolismo do açúcar; ou, ainda, ao nível do indivíduo ou população: por exemplo, educação, classe social, renda, comportamentos, atitudes e conhecimentos (MALTZ *et al.*, 2016). Uma dieta dita “cariogênica” é uma dieta rica em carboidratos fermentáveis, que fornecem ácido quando metabolizados pelo organismo, favorecendo, assim, a queda do pH bucal e levando à perda do componente mineral do dente, a hidroxiapatita. Naturalmente, o flúor presente na cavidade bucal busca obter novamente o equilíbrio. Quando há desequilíbrio nesse processo de desmineralização–remineralização e a desmineralização é favorecida, ela leva à destruição dos tecidos dentais, desenvolvendo a lesão cariiosa. Quando associada a uma má higiene bucal, a adesão de mais bactérias é favorecida no ambiente bucal e, assim, a cárie pode atingir mais tecidos dentais e progredir ainda mais rapidamente. O biofilme dental é um fator essencial para o desenvolvimento da cárie, uma vez que as lesões cariosas só ocorrem em regiões onde o biofilme encontra-se acumulado (MALTZ *et al.*, 2016). Com o processo de desmineralização, a lesão cariiosa pode ser identificada em exames por imagem, o que facilita o diagnóstico nos casos de dificuldade de visualização clínica.

DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE

O diagnóstico de lesões de cárie tem sido amplamente estudado e discutido em relação aos critérios e métodos que são utilizados para esse fim, com foco na adoção de um tratamento adequado de acordo com a referência de Promoção de Saúde Bucal (SANTOS *et al.*, 2003). Atualmente, a Odontologia tem expandido muito as possibilidades de diagnóstico rápido e eficaz, possibilitando a detecção cada vez melhor de lesões cariosas, mesmo sem sinais clínicos evidentes (BRAGA & SEABRA, 2014).

Os métodos utilizados para a detecção de lesões de cárie devem apresentar algumas particularidades para que possam vir a ser utilizados. Entre elas, destacam-se: ser confiável, minimamente invasivo, capaz de diagnosticar as lesões de cárie mesmo que elas ainda estejam em estado inicial, ser confortável ao paciente, ter um custo acessível e ser de rápida e fácil execução (SOARES *et al.*, 2012).

Tagliaferro *et al.* (2019), com o objetivo de avaliar as práticas utilizadas para a obtenção do diagnóstico de cárie dentária, aplicaram um questionário traduzido e adaptado da US

National Dental Practice-Based Research Network (Rede Nacional de Pesquisa Baseada em Práticas Dentárias dos EUA) a 217 dentistas de Araraquara (SP). Quase 60% dos participantes relataram utilizar o método radiográfico com seus pacientes para diagnosticar a cárie proximal, 79% afirmaram utilizar esse método para diagnosticar lesões de cárie nas margens de restaurações existentes, enquanto 64% declararam utilizar o exame clínico para diagnosticar cárie oclusal. Em suma, a maioria relatou que costuma usar métodos visuais, táteis e radiográficos para o diagnóstico de lesões de cárie dentária.

Considerando que o exame clínico detecta, geralmente, menos de 50% das lesões proximais encontradas radiograficamente, ambos os métodos devem estar associados para um melhor diagnóstico (PITTS, 1986).

Moura *et al.* (2014) apontaram que, a fim de se estabelecer um melhor diagnóstico e plano de tratamento, o cirurgião-dentista deve fazer uso dos exames imaginológicos, que incluem radiografias, tomografias e outros exames de imagem. Contudo, o profissional deve se atentar aos níveis de radiação à qual os pacientes podem ser expostos durante a realização dos exames, uma vez que esse nível deve ser o mínimo possível. Avaliando 3100 prontuários de pacientes adultos que foram atendidos em uma faculdade de Odontologia no Brasil, e excluindo aqueles que não realizaram exames radiográficos na consulta inicial, o objetivo deste estudo foi avaliar quais exames de imagem seriam necessários, de acordo com os sinais e sintomas apresentados por cada paciente. Os dados recolhidos foram avaliados por análise descritiva e, a partir deles, foi possível concluir que há falhas na seleção dos exames de imagem para o diagnóstico, o que pode levar os pacientes a uma exposição desnecessária, uma vez que as radiografias devem apresentar mais benefícios do que riscos.

Além de saber indicar e executar os métodos radiográficos, o profissional deve ser capaz de saber interpretar corretamente as imagens obtidas, para conseguir extrair o máximo de informações possível. A classificação mais aceita para as imagens radiográficas de lesões de cárie está baseada na profundidade da desmineralização (DAYO *et al.*, 2021):

E0: superfície dental intacta (Figura 1D);

E1: atinge menos da metade do esmalte, lesão inicial (Figura 1A e 1C);

E2: atinge mais da metade do esmalte, porém não penetra, radiograficamente, a dentina, lesão inicial (Figura 1A e 1C);

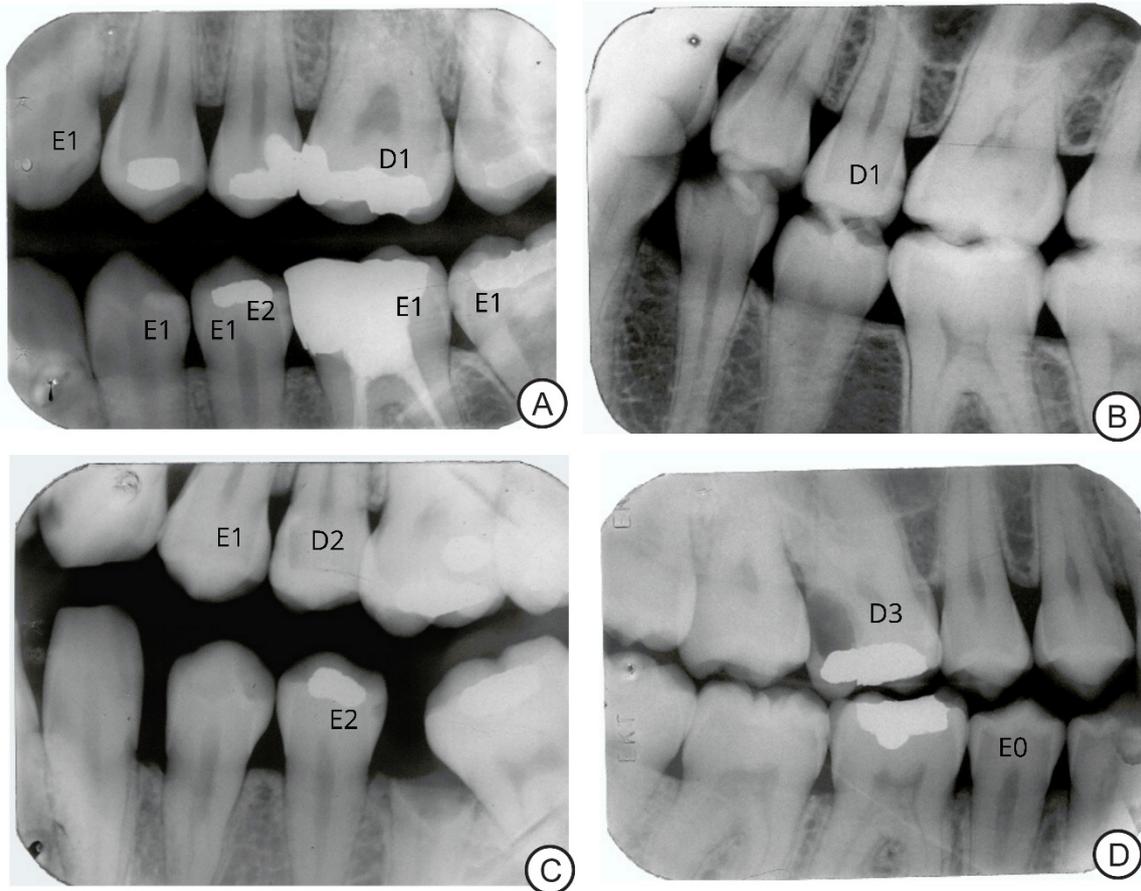
D1: acomete terço externo da dentina, lesão inicial (Figura 1A e 1B);

D2: acomete o terço médio da dentina, lesão moderada (Figura 1C);

D3: acomete o terço interno da dentina, lesão avançada (Figura 1D).

Carmona *et al.* (2016) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a influência da experiência e treinamento do examinador no diagnóstico radiográfico de cáries proximais. Foram utilizados 80 dentes, hígidos ou com lesão em suas superfícies proximais, para a montagem do fantoma, que foi radiografado pela técnica interproximal. Estas radiografias foram avaliadas quanto à presença de cárie por três examinadores diferentes. O primeiro examinador realizou duas avaliações: uma antes de cursar a disciplina de radiologia e outra quando a concluiu; o segundo examinador realizou a avaliação apenas quando já havia concluído a disciplina, e o terceiro examinador já era radiologista. Foi determinado o padrão-ouro de cada dente através de avaliação microscópica, e foram definidos os índices de sensibilidade, especificidade e acurácia. Os autores concluíram que, quanto maior a experiência do avaliador e seu conhecimento na área de radiologia, menor a chance de serem apontados diagnósticos falso-negativos e maior a acurácia do profissional.

Figura 1 – Radiografias interproximais com imagens de lesões de cárie em diferentes profundidades de desmineralização.



Legenda: A: (E1): atinge menos da metade do esmalte, lesão inicial - (E2) atinge mais da metade do esmalte, porém não penetra, radiograficamente, a dentina, lesão inicial - (D1) acomete terço externo da dentina, lesão inicial; B: (D1) acomete terço externo da dentina, lesão inicial; C: (E1): atinge menos da metade do esmalte, lesão inicial - (E2) atinge mais da metade do esmalte, porém não penetra, radiograficamente, a dentina, lesão inicial - (D2) acomete o terço médio da dentina, lesão moderada; D: (E0) superfície dental intacta - (D3) acomete o terço interno da dentina, lesão avançada.

Fonte: O autor, 2021.

USO DE EXAMES DE IMAGEM PARA DIAGNÓSTICO DE LESÃO DE CÁRIE

Desde o surgimento do raio-X e da posterior criação das radiografias odontológicas, as radiografias convencionais têm sido muito usadas como apoio na conclusão do diagnóstico de lesões de cáries. Com o passar dos anos, muitas foram as modificações e modernizações que ocorreram nos aparelhos radiográficos, a fim de melhorar a qualidade e a capacidade da imagem e auxiliar em um diagnóstico cada vez mais preciso da lesão. Todavia, o diagnóstico de lesões de cárie em superfícies oclusais ainda é limitado, uma vez que a visualização da imagem é muito dificultada devido à sobreposição das cúspides (GONÇALVES, 2002).

King & Shaw (1979) realizaram um estudo na tentativa de superar os problemas de diagnóstico clínico relatados em outros estudos, avaliando a capacidade diagnóstica de radiografias interproximais e visando a desenvolver um sistema de diagnóstico de cárie oclusal. Para tanto, 1172 crianças,

com idades entre 11 e 13 anos, foram avaliadas quanto à presença de cárie oclusal clínica e radiograficamente. Apenas 33,2% das superfícies cariadas foram diagnosticadas pelo método radiográfico interproximal, enquanto 96,4% foram diagnosticadas através do exame clínico. Portanto, os autores concluíram que esse exame radiográfico é pouco significativo para o diagnóstico das lesões de cárie em superfícies oclusais, uma vez que essas lesões se encontram encobertas pela sobreposição das imagens das cúspides.

Bader *et al.* (2002) publicaram uma completa e sistemática revisão a respeito dos métodos de diagnóstico de cárie. Os autores pesquisaram nas bases MEDLINE e EMBASE artigos sobre o tema publicados em inglês entre 1966 e 2000 e incluíram 43 desses artigos no estudo, após seleção pelos critérios de inclusão e exclusão. Entre eles estão tanto estudos clínicos quanto laboratoriais, que avaliaram métodos como: visual, visual/tátil, radiográfico (filme D, E e placas de fósforo), transiluminação por fibra óptica, condutância elétrica e *laser* fluorescência. Mais da metade dos estudos avaliaram o método radiográfico e, apesar das variáveis metodológicas, os resultados apresentaram alta sensibilidade e especificidade, tanto para radiografias convencionais quanto digitais, independentemente da face dental estudada.

Alamoudi *et al.* (2019) compararam a capacidade diagnóstica entre o DIAGNOcam (dispositivo utilizado para detecção de cárie precoce que se baseia no uso de transiluminação através de luz infravermelha) e radiografias interproximais na detecção de lesões de cárie proximais cavitadas. Para isso, foram analisadas e radiografadas as superfícies dos primeiros molares decíduos de crianças saudáveis de 5 a 8 anos de idade. Foram incluídas 236 lesões proximais nesse estudo. Dois examinadores treinados e calibrados analisaram a profundidade das lesões nas imagens obtidas através dos métodos estudados. Posteriormente, verificaram a presença de cavitação através do exame visual direto. Embora o DIAGNOcam tenha demonstrado maior sensibilidade em relação às radiografias interproximais, apresentou menor especificidade, sendo uma boa alternativa para o diagnóstico de lesões de cárie em crianças, sem o risco de utilização de radiação ionizante.

Braga *et al.* (2009) avaliaram *in vitro* três métodos de diagnóstico de cárie: visual, radiografias interproximais e *Diagnodent*®, em 131 superfícies proximais de molares decíduos. Para tanto, dentes extraídos foram montados de forma a simular os contatos proximais e foram avaliados por dois examinadores independentes. Os autores puderam concluir, então, que a inspeção visual é melhor; porém, os outros dois métodos também tiveram bom desempenho para detectar cáries em estágios mais avançados.

Gordan *et al.* (2011) aplicaram um questionário a 522 dentistas a fim de avaliar os métodos de diagnóstico de cárie mais empregados e quantificar sua frequência de uso. Segundo eles, a sonda exploradora é o instrumento mais utilizado de detecção de cárie primária e recorrente nas margens de restaurações, e 96% dos dentistas utilizam as radiografias interproximais para diagnóstico de cárie em 75–100% dos casos, principalmente para faces proximais de dentes posteriores.

Vries *et al.* (1990), em seu estudo que compara a avaliação clínica com a técnica radiográfica interproximal em relação a pequenas lesões em esmalte em faces proximais, notaram que a acessibilidade à lesão é um ponto importante. Quando o exame é feito “*in situ*”, muitas lesões pequenas podem passar despercebidas, mas, ao se fazer o uso de radiografias, os raios X podem penetrar nas estruturas, permitindo a visualização da lesão na imagem.

França-Pinto *et al.* (2011) realizaram um estudo com o objetivo de analisar lesões de cárie proximais em molares decíduos e comprovar a melhora no diagnóstico clínico com o uso de radiografias

interproximais. Cinquenta crianças com idades entre 5 e 8 anos, que eram atendidas na Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, foram submetidas ao exame clínico e posterior exame radiográfico interproximal realizado por um único operador treinado, que seguiu uma técnica padronizada para todos os participantes avaliados. O número médio de lesões de cárie proximais posteriores (LPP) diagnosticadas passou de 5,48 (apenas com exame clínico) para 6,14 (com o exame radiográfico interproximal), o que demonstrou que a imagem radiográfica possibilitou diagnosticar 25% das LPP. Em 33% das superfícies radiografadas, a imagem proximal foi considerada impossível de ser avaliada em razão da sobreposição das estruturas. Apesar das limitações do estudo, concluiu-se que o uso de radiografias interproximais melhora o diagnóstico de lesões proximais de cárie.

Segundo Araújo (2001), uma desvantagem apresentada pelos filmes radiográficos é a sujeição destes a erros de processamento, o que pode acarretar equívocos ou mesmo dificuldades para se estabelecer o diagnóstico. Com a introdução e avanços da informática na área de radiologia odontológica, vieram as vantagens da digitalização das imagens radiográficas, feita por meio de um *scanner* de alta resolução ligado a um conversor analógico-digital, o que facilita muito o diagnóstico, otimiza o tempo gasto para concluí-lo (MILES *et al.* 1999; WATANABE *et al.* 1999) e contribui para a aproximação profissional-paciente.

Quanto à qualidade da imagem, Wenzel (2000), em um estudo laboratorial que comparou radiografias digitais diretas e convencionais, concluiu que, para diagnóstico de lesões, ambas apresentam a mesma capacidade, contudo, o contraste, *zoom* e margem da imagem são melhores em radiografias digitais, e a diminuição do nível de radiação à qual o paciente é exposto também é um fator promissor. Seu estudo demonstrou que os sistemas de radiografia digital intraoral são tão precisos quanto o filme dental para a detecção da cárie se a imagem obtida apresentar boa qualidade, embora possam ser necessárias repetições em razão dos erros de posicionamento dos sistemas digitais. A contaminação cruzada não demonstrou ser um problema nos sistemas digitais, desde que sejam seguidos os procedimentos básicos de higiene.

Zhang *et al.* (2011) verificaram a acurácia do diagnóstico de cárie interproximal através de imagens, comparando a radiografia convencional, a tomografia computadorizada de feixe cônico e a radiografia digital (placas de fósforo). Para realizar esse estudo, foram utilizados 39 dentes extraídos com manchas brancas e marrons, porém sem cavitação. Esses foram montados em troquéis e radiografados com os sistemas mencionados. Após essa etapa, as imagens foram analisadas por sete estudantes de pós-graduação e a análise histológica dos dentes foi realizada para confirmar o diagnóstico. Assim, os autores puderam concluir que o diagnóstico realizado com base nas imagens de tomógrafos foi um pouco melhor, porém não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados.

Boscolo *et al.* (2001), com o objetivo de avaliar a qualidade de imagem de dois sistemas digitais CCD, de um sistema digital de armazenamento de fósforo, do filme digitalizado e do filme *E-speed*, analisaram cinco objetos, que foram radiografados com diferentes kVp e tempos de exposição. Foram registradas as medidas no aparelho de raio-X empregado para avaliar a relação entre tempo de exposição e dose de radiação, buscando maior fidelidade dos resultados.

As 375 imagens obtidas foram avaliadas por seis profissionais utilizando uma escala de classificação de 0 a 4. Os resultados mostraram diferentes respostas entre os sistemas analisados, tendo melhor desempenho entre os grupos de exposição em que foi empregado o sistema de armazenamento

de fósforo. Os autores concluíram que todos os sistemas têm a possibilidade de oferecer imagens em condições ideais de diagnóstico, desde que sejam respeitadas suas latitudes.

Em seu estudo, Clasen & Aun (1998) citaram que, no sistema PSP, após a exposição, o sensor é levado para um *scanner*, que tem um feixe de *laser* que causa a emissão de luz, a qual é captada por um fotodetector e transformada em sinais elétricos reconhecidos e interpretados através do *software* que processa a imagem digital. Já no sistema CCD, a transmissão é feita de modo direto, do sensor para o computador, por meio de um sistema de cabos. Trata-se de um dispositivo com duas cargas que faz a transformação de energia ionizante em luz – e, então, em sinais elétricos, que são emitidos por um grande cabo até o conversor (intensificador), o qual converte os sinais elétricos em digitais, fazendo com que a imagem digital apareça no monitor de um computador, podendo ser modificada a partir das ferramentas do programa que acompanha esse sistema.

Em estudo recente, Ikuta e Salzedas (2018) compararam os dois tipos de sensores digitais disponíveis no setor de Radiologia da FOA-UNESP – a CMOS (*Complementary Metal Oxide Semiconductor*) e a PSP (placa de fósforo fotoestimulável) – para a observação de suas semelhanças entre o posicionamento do paciente, o processamento e o armazenamento da imagem, também considerando seus custos de implantação. Os autores concluíram que, apesar de a placa de fósforo representar um sistema de implantação de maior custo, é o mais confortável ao paciente e o que mais se assemelha às radiografias convencionais com filme em relação ao posicionamento. Já o sistema CMOS é mais barato e permite a visualização imediata da imagem obtida. Ambos possibilitam que a imagem seja editada e armazenada em computadores.

Kreich *et al.* (2005) reiteraram que as vantagens da radiografia digital em relação à convencional são: o tempo de exposição é reduzido; a interpretação da imagem é facilitada; é possível realizar cópia, arquivamento e transmissão da imagem; é dispensado o processamento radiográfico, poupando tempo para a obtenção da imagem e reduzindo a possibilidade de erros durante o processo; a distorção da imagem é menor, entre outros benefícios. Essas vantagens têm tornado a radiografia digital e o uso de sistemas digitais cada vez mais custo-efetivo.

Candeiro *et al.* (2009) concluíram que a radiografia digital tem grande potencial de aprimoramento e tende a, possivelmente, vir a substituir a radiografia convencional. Uma de suas limitações no início era sua validade jurídica, contudo, com a ampliação de seu uso, foram criados meios legais de autenticação para essas imagens – como a Medida Provisória nº 2200-2 de 24 de agosto de 2001, que as tornou imutáveis e válidas juridicamente.

Pimentel *et al.* (2018), em um estudo que comparou radiografias interproximais convencionais, radiografias digitais e tomografia computadorizada para o diagnóstico de lesões oclusais de cárie, realizaram esses exames de imagem em 145 terceiros molares, que, posteriormente, foram avaliados por dois especialistas em radiologia, os quais classificaram as imagens quanto à presença de lesões oclusais de cárie. Observou-se diferença estatisticamente significativa entre a proporção de dentes diagnosticados com lesão de cárie na radiografia convencional e na tomografia computadorizada de feixe cônico. Todos os exames mostraram sensibilidade menor que a especificidade e, utilizando como parâmetro a tomografia, a radiografia digital apresentou resultados discretamente superiores para a avaliação das lesões oclusais. Conclui-se que as três modalidades estudadas são válidas para complementar o diagnóstico desse tipo de lesão, contudo, a radiografia digital e a tomografia computadorizada de feixe cônico mostraram-se superiores para esse diagnóstico.

Kalathingal *et al.* (2006) realizaram um estudo comparativo entre a tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) e a radiografia convencional em relação à detecção de cárie proximal e a avaliação de profundidade da lesão. O estudo foi realizado *in vitro* e foi composto por 20 dentes posteriores – que haviam sido extraídos e tinham, no total, 18 lesões de cárie. As fatias tomográficas foram reconstruídas nos planos axiais e parassagital, e as radiografias convencionais foram adquiridas. As imagens obtidas por meio de ambas as técnicas foram analisadas por oito avaliadores, que mensuraram a presença ou não de lesão de cárie e sua profundidade. Por meio desse estudo, foi possível concluir que não há diferença entre a TCFC e a radiografia convencional para a detecção de cáries proximais. Em relação à profundidade da lesão, a tomografia se mostrou mais precisa.

Qu *et al.* (2011) compararam cinco aparelhos de TCFC (*NewTom9000*, *Accuitomo 3DX*, *Kodak 9000 3D*, *ProMax 3D* e *DCT PRO*) com relação à acurácia do diagnóstico de lesões de cárie incipientes nas faces proximais. Após aprovação do comitê de ética, 39 dentes extraídos com manchas brancas e marrons, porém sem cavitação, foram montados em troquéis e radiografados com os tomógrafos mencionados acima. Após essa etapa, as imagens foram analisadas por sete observadores com experiência em diagnóstico de lesões de cárie. Em seguida, uma validação do diagnóstico foi realizada através de exame histológico. Os autores concluíram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados.

Park *et al.* (2011) fizeram uma revisão de literatura no *PubMed* a respeito do diagnóstico de cárie utilizando como ferramenta a TCFC. Segundo os autores, entre os trabalhos lidos, há uma tendência a dizer que o sistema de tomografia computadorizada é mais preciso do que os métodos convencionais na detecção de cárie oclusal e lesões profundas em dentina; no entanto, evidências científicas são ainda insuficientes para tal afirmação. Outro fator importante é que todos os artigos lidos são estudos laboratoriais, portanto, há a necessidade de se realizarem estudos clínicos para validar essa suposição.

Horner *et al.* (2020) realizaram uma revisão sistemática para avaliar a eficácia diagnóstica da TCFC na odontologia pediátrica. Após triagem, 190 estudos *in vivo* foram incluídos. A eficácia da TCFC encontrada nos estudos foi diversa e, frequentemente, de qualidade limitada. Foram descritas vantagens para fraturas radiculares e localização de estruturas dentárias para planejamento cirúrgico, contudo, concluiu-se que o movimento do paciente, muito comum em crianças, pode prejudicar e reduzir a eficácia do diagnóstico. Destacou-se ainda que a TCFC não deve ser utilizada como uma ferramenta primária no diagnóstico de lesões de cárie, visto que seu custo é elevado e a taxa de exposição à radiação é maior, sendo indicada apenas quando o exame radiográfico convencional não corresponder ao objetivo pelo qual foi solicitado.

Tymofiyeva *et al.* (2009) estudaram *in vivo* a aplicabilidade da ressonância magnética (RM) para a visualização e quantificação de lesões de cárie, bem como para mensurar a sua distância em relação à câmara pulpar. Para isso, cinco pacientes com lesões de cárie foram incluídos no estudo, sendo: dois casos de lesões em fôssulas e fissuras; quatro lesões nas faces proximais e uma lesão de cárie oculta a nível de dentina. Para o exame RM de alta resolução, foi utilizado um contraste de *gadolinium* gelatinoso para aplicação tópica, em combinação com uma bobina receptora de radiofrequência intraoral em um aparelho de 1,5 T. A reconstrução e a análise das imagens e mensurações foram realizadas em um *software* específico. Além disso, foram aplicadas radiografias intraorais e moldagem antes do tratamento e do preparo cavitário. O tamanho das lesões detectadas na RM foi maior que nas moldagens antes do tratamento e radiografias, mas similar ao que foi encontrado clinicamente.

As lesões de cárie e a câmara pulpar foram claramente visualizadas, portanto, pequenas distâncias entre ambas podem ser mensuradas (0,3 mm), com a vantagem de não utilizar radiação ionizante.

Mendes *et al.* (2020), em uma revisão sistemática da literatura, com o objetivo de avaliar o uso da RM na odontologia, utilizaram a seguinte pergunta PICO: em pacientes que necessitam de exames de imagem na região dental (P), a RM (I) é aplicável (O) e sua acurácia (O) para visualização das estruturas dentárias e de suporte é comparável à de radiografias convencionais, TCFC e medidas clínicas (C). Após pesquisa nas bases de dados e aplicação dos critérios de inclusão e elegibilidade, além da avaliação da qualidade dos estudos, foram incluídos 12 estudos. Em termos de diagnóstico de lesões de cárie, a RM 3D-*ultrashort echo time* (3D-UTE) mostrou maior sensibilidade (97–100%) na detecção do que as radiografias interproximais (81–85%) e a RM *high resolution-turbo spin echo* (HR-TSE) (17–19%). Todas as lesões apareceram maiores na 3D-UTE do que nos outros métodos. Porém, os autores sugerem que mais estudos nessa área sejam conduzidos.

Kocasarac & Angelopoulos (2018) escreveram uma revisão da literatura a respeito do uso da ultrassonografia (US) na odontologia. Sobre o diagnóstico de lesões de cárie, os autores dizem que as ondas emitidas pelo aparelho têm a habilidade de penetrar sólidos, como esmalte e dentina, sendo este, portanto, indicado para esse tipo de avaliação, com resultados promissores. Porém, ainda há falta de padronização no método de avaliação, e os estudos clínicos são limitados.

Kim *et al.* (2019) avaliaram lesões de cárie incipientes (lesões de mancha branca) *in vitro* com US de alta frequência, comparando com a US convencional e imagens de microtomografia, com o objetivo de verificar o formato e profundidade das lesões. Com a US convencional, não foi possível fazer a distinção entre o tecido sadio e o afetado pela cárie. Por outro lado, a morfologia da lesão foi facilmente identificada quando a US de alta frequência foi utilizada, distinguindo áreas de desmineralização de regiões normais (o que foi confirmado com a microtomografia). Além disso, a profundidade das lesões também foi compatível nesse método. Concluiu-se, então, que a imagem da US de alta frequência tem potencial para a detecção de lesões de cárie incipientes, com melhor contraste e resolução que a US convencional, além de oferecer informações como profundidade e formato da desmineralização.

Luong *et al.* (2020) realizaram um estudo sobre diagnóstico de cárie oclusal que analisou a tomografia de coerência óptica 3D (OCT) em comparação às radiografias digitais. Esse tipo de tomografia se baseia no princípio de interferometria de baixa coerência e consegue produzir informações detalhadas sobre a dispersão e a reflexão da luz na amostra, fornecendo imagens de estruturas internas de forma não invasiva — e, por isso, é muito utilizado na oftalmologia. Foram analisados molares humanos que não apresentavam os critérios de lesões de cárie avançada da *American Dental Association* (ADA), os quais foram montados em um bloco de silicone e radiografados. Posteriormente, eles foram escaneados através da OCT. Treze examinadores avaliaram as imagens radiográficas e as fatias dinâmicas tomografadas. Estatisticamente, analisou-se sensibilidade, especificidade e área sob as curvas características operacionais (Az). A tomografia OCT apresentou valores maiores de Az e de sensibilidade em relação às radiografias, as quais demonstraram sensibilidade baixa para lesões de cárie em dentina. Em conclusão, esse tipo de tomografia mostrou-se uma poderosa ferramenta para diagnóstico de cárie oclusal, principalmente para lesões de dentina, sejam elas com ou sem cavitação. No entanto, o estudo foi laboratorial, com um protótipo da OCT para ser utilizado intraoral.

FATORES QUE DIFICULTAM O DIAGNÓSTICO DAS LESÕES DE CÁRIE

É fundamental o papel do exame clínico para a determinação do diagnóstico das lesões de cárie, contudo, nem sempre ele é suficientemente verdadeiro e positivo nos casos de lesões proximais. O diagnóstico de lesões de cárie proximais incipientes é dificultado pela impossibilidade de visualização direta. Porém, é importante ressaltar que nenhuma decisão clínica deve ser baseada apenas em um único método diagnóstico (HALA *et al.*, 2006). Um recurso utilizado para auxiliar na detecção de lesões de cárie nessa região é o uso de algum instrumento mecânico, por exemplo, os afastadores ortodônticos, a fim de possibilitar uma melhor visualização clínica (HOPCRAFT *et al.*, 2005). Mas o método mais comum e frequente para o diagnóstico desse tipo de lesão têm sido as radiografias interproximais (HALA *et al.*, 2006; HOPCRAFT *et al.*, 2005).

De acordo com Mestriner *et al.* (2006), o uso de radiografias interproximais deve ser feito mesmo em paciente livres de lesões de cárie. Estudos demonstraram que, quando há possibilidade de visualização de lesões cariosas por meio de radiografias interproximais, essas lesões apresentam maior profundidade de penetração histológica (VIRAJILP *et al.*, 2005), ou seja, há subestimação do tamanho real da lesão na radiografia.

Um fator importante que pode exercer influência na interpretação da imagem radiográfica é a radiopacidade dos materiais restauradores. Resinas compostas e cimentos de ionômero de vidro radiolúcidos, em relação à radiodensidade do esmalte e da dentina, dificultam a análise e conclusão do diagnóstico de lesões de cárie, tornando a diferenciação entre desadaptação e lesões de cárie adjacentes à margem de restaurações irregulares ou manchadas um desafio ao profissional (SILVA & MALTZ, 2004).

DISCUSSÃO

A cárie é uma doença multifatorial que representa um dos maiores problemas de saúde bucal do mundo (FEJERSKOV & KIDD, 2005; MALTZ *et al.*, 2016), e seu diagnóstico precoce é essencial para que não ocorra a necrose pulpar e o subsequente desenvolvimento de lesões inflamatórias na região periapical. Os métodos de detecção mais utilizados são o exame clínico e as radiografias intraorais (TAGLIAFERRO *et al.*, 2019), por serem confiáveis, minimamente invasivos, com custo acessível e relativamente confortáveis para o paciente (SOARES *et al.*, 2012). A associação entre esses métodos é uma grande aliada para a conclusão do diagnóstico (CHAVES *et al.*, 2010; PITTS, 1986; VRIES *et al.*, 1990), porém, infelizmente, essa não é a realidade do radiologista quando precisa interpretar uma imagem solicitada. A falta da visualização clínica deixa algumas dúvidas, principalmente quando há materiais restauradores, que podem apresentar diferentes radiopacidades em relação ao esmalte e à dentina, dependendo da marca usada (MESTRE *et al.*, 2012; PEDROSA *et al.*, 2007; SALZEDAS *et al.*, 2006). Por se tratar de um processo de desmineralização dental, sua imagem é caracterizada por ser radiolúcida (hipodensa, hipossinal, hipoecoica) e difusa, localizada na coroa do dente acometido. A radioluscência nessa região pode representar desde restaurações desadaptadas a lesões de cárie adjacentes, apresentando dificuldades para o profissional (SILVA & MALTZ, 2004).

A respeito do diagnóstico de lesões de cárie por imagem, a odontologia tem expandido cada vez mais suas possibilidades, uma vez que a maioria dos dentistas tem optado pelo uso de métodos imagiológicos, os quais possibilitam uma maior precisão no diagnóstico (BRAGA & SEABRA, 2014; TAGLIAFERRO *et al.*, 2019). Contudo, um fator de extrema importância é a experiência do profissional

para poder realizar desde a solicitação (ou a técnica) até a interpretação correta da imagem, o que pode influenciar tanto na eficácia quanto na segurança do método — evitando, por exemplo, a exposição desnecessária do paciente à radiação (CARMONA *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2014).

O exame radiográfico intrabucal é utilizado por muitos profissionais, na maioria dos casos, para a avaliação de lesões de cárie (GORDAN *et al.*, 2011), pois apresenta alta sensibilidade (BADER *et al.*, 2002) e especificidade (ALAMOUDI *et al.*, 2019; BADER *et al.*, 2002), tanto no método convencional quanto no digital, independentemente da face dental (BADER *et al.*, 2002). A técnica interproximal é a mais indicada para a visualização de lesões de cárie nas faces proximais (FRANÇA-PINTO *et al.*, 2011), tanto para pequenas lesões em esmalte (VRIES *et al.*, 1990), quanto para lesões de cárie em estágios mais avançados (BRAGA *et al.*, 2009).

Para superfícies oclusais, o diagnóstico das lesões de cárie por meio de exames radiográficos é limitado, em razão da sobreposição das cúspides (GONÇALVES, 2003; KING & SHAW, 1979). Apesar de a técnica interproximal convencional ser utilizada para complementar o exame clínico, a radiografia digital e a TCFC mostram-se superiores para esse fim (PIMENTEL *et al.*, 2018). Outro método de imagem bastante promissor para esse tipo de avaliação é a tomografia de coerência óptica (OCT), que apresenta maior sensibilidade em relação às radiografias digitais, principalmente para lesões de dentina, sejam elas com ou sem cavitação (LUONG *et al.*, 2020).

Tratando-se dos sistemas de imagem radiográfica digital, eles se mostraram superiores quando comparados aos convencionais em relação à qualidade da imagem obtida, ao tempo gasto e à menor sujeição a erros de processamento, uma vez que o sistema digital dispensa esse processo (ARAÚJO, 2001; BOTELHO *et al.*, 2003; KREICH *et al.*, 2005; MILES *et al.*, 1999; WATANABE *et al.*, 1999; WENZEL, 2000). Uma das limitações quanto ao uso de radiografias digitais era sua validade jurídica, contudo, após a criação de meios de autenticação, elas se tornaram imutáveis e válidas perante a lei (CANDEIRO, 2009).

Um avanço na área da radiologia odontológica tem sido o uso de tomografias como exame imagiológico complementar e auxiliar ao diagnóstico. A TCFC tem apresentado resultados positivos quanto ao seu uso para a detecção de lesões de cárie (KALATHINGAL *et al.*, 2007; PARK *et al.*, 2011; PIMENTEL *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2011), inclusive no diagnóstico de lesões de cárie incipientes, independentemente do aparelho de aquisição (QU *et al.*, 2011). A grande vantagem desse exame é a precisão em relação à profundidade da lesão, que é superior à da radiografia convencional (KALATHINGAL *et al.*, 2007). Visto que tem alto custo e exposição elevada do paciente à radiação, a TCFC deve ser indicada apenas quando o exame radiográfico não cumprir as necessidades do diagnóstico (HORNER *et al.*, 2020).

O exame de ressonância magnética (RM) também tem sido utilizado para a visualização e quantificação de lesões de cárie (MENDES *et al.*, 2020; TYMOFIYEVA *et al.*, 2009), bem como para mensurar a sua distância em relação à câmara pulpar (TYMOFIYEVA *et al.*, 2009) — com a vantagem de não utilizar radiação ionizante e apresentando sensibilidade maior que as radiografias interproximais (MENDES *et al.*, 2020). Porém, esse é um exame com um custo mais elevado e de difícil disponibilidade.

A ultrassonografia (US) também tem sido investigada para o diagnóstico de lesões de cárie, com resultados promissores. No entanto, ainda há falta de padronização no método de avaliação, e os estudos clínicos são limitados (KOCASARAC & ANGELOPOULOS, 2018). A US de alta frequência tem se mostrado um grande avanço no diagnóstico de lesões incipientes, com melhor contraste e

resolução que a US convencional, além de oferecer informações como profundidade e formato da desmineralização (KIM *et al.*, 2019).

Apesar dos avanços tecnológicos, o profissional deve estar capacitado para interpretar as imagens obtidas, independentemente da técnica utilizada, pois isso é essencial para um diagnóstico preciso.

CONCLUSÃO

A literatura mostra que os exames imaginológicos são um aliado fundamental para o diagnóstico de lesões de cárie de difícil visualização clínica. Os avanços na tecnologia têm possibilitado a utilização de métodos mais modernos, com melhor qualidade de imagem, mais segurança ao paciente e com maior sensibilidade para esse fim. Portanto, é necessário por parte do profissional o conhecimento a respeito dos exames disponíveis e de seus benefícios, bem como suas limitações, visando a otimizar sua utilização.

REFERÊNCIAS

- ALAMOUDI, N. M. et al. Accuracy of the DIAGNOcam and bitewing radiographs in the diagnosis of cavitated proximal carious lesions in primary molars. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, v. 22, n.1, p. 1576-1582, 2019.
- ARAUJO, E. A. F. de. **Comparação entre a imagem radiográfica interproximal convencional e a digital direta na detecção de cáries proximais**. 2001. 93 f. Dissertação (estrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Odontologia (Campus de São José dos Campos), 2001.
- BADER, J. D.; SHUGARS, D. A.; BONITO, A. J. A systematic review of the performance of methods for identifying carious lesions. **Journal of Public Health Dentistry**, v. 62, n. 4, p. 201-213, 2002.
- BRAGA, G. T.; SEABRA, L. M. A. O papel do exame radiográfico no diagnóstico de lesões cariosas proximais na clínica odontopediátrica. **Arquivo Brasileiro de Odontologia**, v.10 n.1, p. 21-25, 2014.
- BRAGA, M. M. et al. In vitro performance of methods of approximal caries detection in primary molars. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 108, n. 4, p. 35-41, 2009.
- BOSCOLO, F. N. et al. Estudo clínico comparativo da qualidade de imagem de três sistemas radiográficos digitais, filme E-speed e filme digitalizado. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 15, n. 4, p. 327-333, 2001.
- BOTELHO, T. de L.; MENDONÇA, E. F. de; CARDOSO, L. L. M. Contribuição da radiografia digital na clínica odontológica. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 12, n. 33, p. 55-59, 2003.
- CANDEIRO, G. T de M.; BRINGEL, A. de S. F; VALE, I. S. do. Radiologia digital: revisão de literatura. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v.30, n.2, p. 38-44, 2009.
- CARMONA G. P. et al. Influência da experiência profissional no diagnóstico radiográfico de cáries. **Ciência Odontológica Brasileira**, v. 9, n. 1, p 87-92, 2006.
- CHAVES L. P. et al. Cárie proximal – fundamentos e recursos para diagnóstico precoce. **Odontologia Clínico-Científica**, v.9, no.1, p. 33-37, 2010.

- CLASEN, N. F.; AUN, C. E. Radiografia digital direta: análise dos principais sistemas e recursos. **Revista de Odontologia da Universidade da Cidade de São Paulo**, v. 10, n. 2, p. 09-20, 1998.
- COSTA E SILVA, A. V. et al. Diagnóstico de lesão de cárie proximal por imagem: Revisão Sistemática. **Odontologia Clínico-Científica**, v. 11, n. 1, p. 17-24, 2012.
- DAYO, A. F. et al. Radiology of Dental Caries. **Dental Clinics of North America**, v. 65, n. 3, p. 427-445, 2021.
- FEJERSKOV, O.; KIDD, E. Cariologia clínica e a dentística operatória. **Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico**. São Paulo: Santos, p. 3-6, 2005.
- FRANÇA-PINTO, C. C. et al. Cárie proximal em dentes decíduos posteriores: diagnóstico e fatores associados. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 11, n. 3, p. 387-392, 2011.
- GONÇALVES, M. de A. **Determinação da profundidade da lesão de cárie oclusal em dentes decíduos por meio de radiografias convencional e digital direta. Efetividade dos recursos de imagem e desempenho do examinador**. 2003. 126 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara, 2003.
- GORDAN, V. V. et al. Methods used by dental practice-based research network (DPBRN) dentists to diagnose dental caries. **Operative Dentistry**, v. 36, n. 1, p. 2-11, 2011.
- HAAK R.; WICHT M. J.; NOACK M. J. Conventional, digital and contrast-enhanced bite-wing radiographs in the decision to restore proximal carious lesions. **Caries Research** v. 35, n. 3, p. 193-199, 2001.
- HALA, L. A.; MELLO, J. B.; CARVALHO, P. L. Evaluation of the effectiveness of clinical and radiographic analysis for the diagnosis of proximal caries for different clinical experience levels: comparing lesion depth through histological analysis. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, v. 5, n. 17, p. 1012-1017, 2006.
- HOPCRAFT, M. S.; MORGAN, M. V. Comparison of radiographic and clinical diagnosis of approximal and occlusal dental caries in a young adult population. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**; v. 33, n. 3, p. 212-218, 2005.
- HORNER, K. et al. Diagnostic efficacy of cone beam computed tomography in paediatric dentistry: a systematic review. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v. 21, n. 4, p. 407-426, 2020.
- IKUTA, C. R. S.; SALZEDAS, L. M. P. Comparação clínica de dois sistemas digitais de radiografias intraorais. **Archives of Health Investigation**, v. 7, n. 6, p. 213-216, 2018.
- KALATHINGAL, S. M. et al. In vitro assessment of cone beam local computed tomography for proximal caries detection. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 104, n. 5, p. 699-704, 2006.
- KASSEBAUM, N. J. et al. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. **Journal of Dental Research**, v. 94, n. 5, p. 650-658, 2015.
- KIM, J. et al. High-frequency ultrasound imaging for examination of early dental caries. **Journal of Dental Research**, v. 98, n. 3, p. 363-367, 2019.
- KING, N. M.; SHAW, L. Value of bitewing radiographs in detection of occlusal caries. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 7, n. 4, p. 218-221, 1979.

- KOCASARAC, H. D.; ANGELOPOULOS, C. Ultrasound in dentistry toward a future of radiation-free imaging. **Dental Clinics of North America**, v. 62, n. 3, p. 481-489, 2018.
- KREICH, E. M. et al. Imagem digital na Odontologia. **Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 11, n. 3, p. 53-61, 2005.
- LUNARDELLI, S. E. et al. Autoestima e cárie dentária em adolescentes: um estudo seccional. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 45, n. 6, p. 332-338, 2016.
- LUONG, M.N. et al. Diagnosis of occlusal caries with dynamic slicing of 3D optical coherence tomography images. **Sensors (Basel)**, v. 20, n. 6, p. 1659, 2020.
- MALTZ, M. et al. **Cariologia: conceitos básicos, diagnóstico e tratamento não restaurador**. 1ª edição. Artes Médicas, 2016.
- MENDES, S. et al. Evaluation of magnetic resonance imaging for diagnostic purposes in operative dentistry - a systematic review. **Clinical Oral Investigations**, v. 24, n. 2, p. 547-557, 2020.
- MESTRE, K. M.L. et al. A ausência de radiopacidade em alguns cimentos de ionômero de vidro. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v. 66, n. 1, p. 24-29, 2012.
- MESTRINER, S. F.; PARDINI, L. C.; MESTRINER, W. J. Impact of the bitewing radiography exam inclusion on the prevalence of dental caries in 12- year-old students in the city of Franca, São Paulo, Brazil. **Journal of Applied Oral Science**, v. 14, n. 3, p. 167-171, 2006.
- MILES, D. A.; LANGLAIS, R. P.; PARKS, E. T. Digital x-rays are here; why aren't you using them? **Journal of the California Dental Association**, v. 27, n. 12, p. 926-934, 1999.
- MOURA, L. B.; BLASCO, M. A. P.; DAMIAN, M. F. Exames radiográficos solicitados no atendimento inicial de pacientes em uma Faculdade de Odontologia brasileira. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 43, n. 4, p. 252-257, 2014.
- MØYSTAD A. et al. Detection of approximal caries with a storage phosphor system. A comparison of enhanced digital images with dental X-ray film. **Dentomaxillofacial Radiology**, v. 25, n. 4, p. 202-206, 1996.
- OHKI, M.; OKANO, T.; NAKAMURA, T. Factors determining the diagnostic accuracy of digitized conventional intra-oral radiographs. **Dentomaxillofacial Radiology**, v. 23, n. 2, p. 77-82, 1994.
- PARK, Y. S. et al. Current status of dental caries diagnosis using cone beam computed tomography. **Imaging Science in Dentistry**, v. 41, n. 2, p. 43-51, 2011.
- PEDROSA, R. F. et al. Influência de materiais restauradores na interpretação radiográfica. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo**, v. 12, n. 3, p. 35-39, 2007.
- PIMENTEL, P. A. G. et al. Comparação entre radiografia interproximal convencional, radiografia digital e tomografia computadorizada de feixe cônico no diagnóstico de lesões oclusais de cárie – estudo in vitro. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 27, n. 81, p. 82-86, 2018.
- PITTS, N. B. Regression of approximal carious lesions diagnosed from serial standardized bitewing radiography. **Caries Research**, v.20, n. 1, p.85-90, 1986.
- QU, X. et al. Detection accuracy of in vitro approximal caries by cone beam computed tomography images. **European Journal of Radiology**, v. 79, n. 2, p. 24-27, 2011.

- SALZEDAS, L. M. P.; LOUZADA, M. J. Q.; OLIVEIRA FILHO, A. B. de. Radiopacity of restorative materials using digital images. **Journal of Applied Oral Sciences**, v. 14, n. 2, p. 147-152, 2006.
- SANTOS, N. B. et al. Diagnóstico de cárie hoje: novas tendências e métodos. **Jornal Brasileiro de Odontopediatria e Odontologia do Bebê**, v. 6, n. 31, p. 255-262, 2003.
- SENEL, B. et al. Diagnostic accuracy of different imaging modalities in detection of proximal caries. **Dentomaxillofacial Radiology**, v. 39, n. 8, p. 501-511, 2010.
- SILVA, B. B.; MALTZ, M. Cárie secundária - uma revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre**, v. 45, n. 1, p. 29-33, 2004.
- SILVA, C. H. F. et al. Levantamento epidemiológico de cpo-d em escolares de 12 anos do município de Pedra Branca, Ceará. **Revista de Saúde Coletiva da UEFS**, v. 9, n. 1, p. 16-22, 2019.
- SOARES, G. G. et al. Métodos de detecção de cárie. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 69, n.1, p. 84-89, 2012.
- TAGLIAFERRO, E. et al. Caries diagnosis in dental practices: results from dentists in a Brazilian community. **Operative Dentistry**, v. 44, n. 1, p. 23-31, 2019.
- TYMOFIYEVA, O. et al. High-resolution 3D magnetic resonance imaging and quantification of carious lesions and dental pulp in vivo. **Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine**, v. 22, n. 6, p. 365-374, 2009.
- VIRAJISILP, S. et al. Comparison of proximal caries detection in primary teeth between laser fluorescence and bitewing radiography. **Pediatric Dentistry**, v. 27, n. 6, p. 493-498, 2005.
- VRIES, H. C. B. et al. Radiographic versus clinical diagnosis of approximal carious lesions. **Caries Research**, v. 24, n. 5, p. 364-370, 1990.
- WATANABE, P. C. A. et al. Estudo atual da arte da imagem digital em Odontologia. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v. 53, n. 4, p. 320-325, 1999.
- WENZEL, A. Digital imaging for dental caries. **Dental Clinics of North America**, v. 44, n. 2, p. 319-338, 2000.
- ZHANG, Z. et al. The detection accuracies for proximal caries by cone-beam computerized tomography, film, and phosphor plates. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 111, n. 1, p. 103-108, 2011.

ALTERAÇÕES INTESTINAIS INFLAMATÓRIAS DO ESTRESSE OXIDATIVO NA SÍNDROME DA HIPERTENSÃO PORTAL: AÇÃO DA GLUTAMINA

INFLAMMATORY BOWEL AND OXIDATIVE STRESS CHANGES IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF PORTAL HYPERTENSION: ACTION GLUTAMINE

Ariane Tainá da Silva^{1,2}, Rebeca Loureiro Rebouças^{3*}, Francielli Licks⁴, Henrique Fillmann⁵, Norma Anair Possa Marroni^{1,2}

¹Laboratory of Hepatology and Experimental Gastroenterology, Hospital das Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Porto Alegre/Brasil

²PPG em Ciências Biológicas: Fisiologia - UFRGS, Porto Alegre/Brasil

³Departamento de Medicina, Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná - FEMPAR, Curitiba/Brasil

⁴Centro Universitário Metodista - IPA, Porto Alegre/Brasil

⁵Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Porto Alegre/Brasil

*Autor para correspondência: Rebeca Loureiro Rebouças

Endereço para correspondência: Rua Pe. Anchieta 2770, Bigorriho, Curitiba, PR, CEP 80730-000.

Tel: +55 (41) 3240-5500

Endereço eletrônico: rebecareboucas@gmail.com

RESUMO

A hipertensão portal (HP) é caracterizada por um aumento patológico da pressão portal, envolvendo distúrbios hemodinâmicos e redox. Para a HP, a suplementação com a glutamina (GLU) tem potencial terapêutico, principalmente por sua ação antioxidante. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação antioxidante da GLU sobre o estresse oxidativo e o papel do óxido nítrico (NO) no intestino no modelo de HP. Para isso, foi realizado um experimento que contou com 28 ratos *Wistar* machos divididos em grupos: o primeiro *Sham-operated* (SO), SO + GLU e o segundo da ligadura parcial da veia porta (LPVP), LPVP + GLU. Foram realizadas as seguintes análises: histológica, estresse, oxidativo e nitrosativo. Os resultados da investigação mostraram que houve estatisticamente o aumento significativo da pressão portal nos grupos com LPVP. Na avaliação histológica, houve alterações patológicas no grupo LPVP, enquanto no grupo LPVP + GLU a mucosa foi semelhante aos controles. Quanto aos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no intestino, houve uma elevação estatisticamente significativa no grupo LPVP em relação ao LPVP + GLU. Por outro lado ocorreu o declínio significativo na enzima superóxido dismutase e nos metabólitos do NO, ao comparar com os mesmos grupos. Conseqüentemente, a GLU foi eficaz na redução dos danos decorrentes do modelo de HP no intestino pelo LPVP e, portanto, pode ser sugerida como alternativa terapêutica na atenuação da HP.

Palavras-chaves: Hipertensão Portal; Glutamina; Ratos *Wistar*, Estresse Oxidativo, Óxido Nítrico.

ABSTRACT

A prior portal hypertension (PH) characteristic is a pathological increase in portal pressure involving hemodynamic and redox disorders. For PH, glutamine (GLU) supplementation has therapeutic potential, mainly due to its antioxidant action. Therefore, this study aimed to evaluate the

antioxidant action of GLU on oxidative stress and the role of nitric oxide on the intestine in the PH model. The experiment divided 24 male Wistar rats into groups: Sham-operated (SO), SO + GLU, partial portal vein ligation (PPVL), PPVL+GLU. Analyzes were performed: on histological, oxidative, and nitrosative stress. There was a statistically significant increase in portal pressure in the groups with PPVL. There were pathological alterations in the PPVL group in the histological evaluation, while in the PPVL +GLU group, the mucosa was like the controls. For the levels of TBA-RS in the intestine, statistically, the increase was significant in the PPVL group compared to PPVL+GLU. While there was a notable decrease in SOD enzyme and nitric oxide metabolites, comparing the same groups. Therefore, GLU effectively reduced the damage resulting from the PH model in the intestine by PPVL; thus, the study results suggested it as a therapeutic alternative for the attenuation of PH.

Keywords: Hypertension, Portal; Glutamine; Rats, Wistar, Oxidative Stress, Nitric Oxide.

INTRODUÇÃO

A veia porta hepática é um vaso formado pelas veias mesentéricas superiores e esplênicas, que move o sangue do baço e do trato gastrointestinal para o fígado, fornecendo 75% do sangue do fígado. A medida da pressão entre a veia porta e a veia cava inferior, definida como o gradiente de pressão venosa hepática, representa a de perfusão portal do fígado e, fisiologicamente, varia de 1 a 4 mm Hg (SIMONETTO et al., 2019)

Quando ocorre aumento anormal dessa pressão no sistema portal, com valores superiores a 5 mm Hg, é caracterizado como hipertensão portal (HP). Uma vez que valores maiores que 10 mm Hg se correlacionaram com manifestações clínicas significativas como ascite, varizes gastroesofágicas, esplenomegalia, trombocitopenia, encefalopatia portossistêmica e síndrome hepatopulmonar. (SIMONETTO et al., 2019). Essa patologia se deve ao aumento do fluxo sanguíneo portal e/ou resistência vascular. A resistência ao fluxo, na maioria das vezes, apresenta uma obstrução mecânica e um componente bioquímico devido à diminuição da síntese do óxido nítrico (NO), que resulta em contração reversível ativa do leito porto-hepático. A elevação gradual da pressão no sistema porta leva ao desenvolvimento de vasos colaterais, com o objetivo de redistribuir o fluxo sanguíneo do sistema venoso portal para uma circulação maior (BOSCH et al., 2008) e (TETANGCO; et al., 2016).

A repercussão da HP em nível gastrointestinal, explicada principalmente pela vasodilatação, angiogênese e estase esplâncnica prolongada, atinge toda a extensão desse trato, inclusive o intestino delgado. Desse modo, pode gerar prejuízo funcional, decorrente de alteração eletrofisiológica por redução da atividade mioelétrica, possibilitando a evolução para íleo paralítico e favorecendo a translocação bacteriana. Além disso, há a chance de apresentar manifestações enterorrágicas, por sangramento, ao nível da lâmina própria dos vasos varicosos que se rompem (BOSCH et al., 2008) e (FERRAZ et al., 2011).

O sangramento digestivo está presente em 80-90% dos pacientes com HP, isso deve-se por se tratar de uma manifestação clínica associada à elevada morbimortalidade, essa alta prevalência, indica e necessidade de melhor elucidar os mecanismos fisiopatológicos da HP. Com o intuito de tentar estabelecer estratégias terapêuticas, que minimizem as consequências, decorrentes dessa alteração hemodinâmica (MAJID et al., 2009).

Os modelos de pesquisa com animais demonstraram ser eficazes na modelagem da progressão da doença e na decifração de vias moleculares específicas e, portanto, contribuíram para diferentes estratégias terapêuticas em distintas etiologias da enfermidade. O modelo experimental de ligadura parcial da veia porta (LPVP) é o mais usado para estudar HP pré-hepática. Este modelo foi desenvolvido por Sikuler et al (KÖNIGSHOFER et al., 2019) e (SIKULER et al., 1985).

Alguns fatores, entretanto, já foram identificados como desencadeadores e responsáveis pela progressão da HP, como o estresse oxidativo, que está relacionado à evolução da circulação colateral. Portanto, a terapia antioxidante tornou-se um alvo no desenvolvimento terapêutico (BOYER-DIAZ et al., 2020).

Com isso, aminoácidos como a glutamina (GLU) têm sido utilizados como agentes antioxidantes, que têm mostrado resultados promissores na atenuação dos processos inflamatórios intestinais e na ação sobre os radicais livres de oxigênio (GUIZONI et al., 2020) e (ZABOT et al., 2017).

Em enfermidades que apresentam um componente inflamatório, como a HP, os radicais livres e outros oxidantes são determinantes críticos das vias de sinalização celular. O próprio organismo dispõe de meios para regular o processo de oxidação-redução para manter a homeostase, uma das enzimas que desempenha o papel de antioxidante, é a superóxido dismutase (SOD), que desempenha um papel patogênico essencial em doenças inflamatórias, não apenas catalisando a conversão de superóxido em peróxido, de hidrogênio e oxigênio, mas também afetando as respostas imunológicas. As enfermidades que apresentam um componente inflamatório, como a HP, os radicais livres e outros oxidantes são determinantes críticos das vias de sinalização celular (NGUYEN et al., 2020).

As enzimas SOD controlam os níveis de uma variedade de espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio, limitando assim a toxicidade potencial dessas moléculas e controlando amplos aspectos da vida celular (WANG et al., 2018).

No entanto, existem outros mecanismos envolvidos, como a regulação da vasorreatividade pelo óxido nítrico, que desempenha um papel importante na fisiopatologia da HP, uma vez que foi encontrada redução na atividade da NO endotelial hepática sintase (eNOS), juntamente com o aumento do NO, derivado da eNOS geradas nas circulações esplâncnica e sistêmica na evolução da doença (FIORUCCI; DISTRUTTI, 2016).

Assim, o objetivo geral deste estudo foi avaliar a ação antioxidante da GLU, sobre o estresse oxidativo, e o papel do NO no intestino em modelo de HP, submetido ao modelo experimental de LPVP e no Sham-operated (SO). Os objetivos específicos foram analisar entre os diferentes grupos experimentais: a pressão portal; a lipoperoxidação intestinal pela técnica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); a atividade da enzima antioxidante SOD intestinal; os metabólitos do NO (nitritos / nitratos) em intestino; e as alterações histológicas entéricas.

MATERIAIS E MÉTODOS

ÉTICA

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com a legislação brasileira vigente para a prática de pesquisa científica com animais (Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, 2013, Diretrizes

brasileiras para o cuidado e uso de animais para fins científicos e educacionais e diretrizes CONCEA 2013 para a prática de eutanásia) e de acordo com a Declaração de Helsinque revisada em 2013

ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados vinte e oito ratos *Wistar* machos pesando entre 200 e 300 gramas, adquiridos de fornecedores cadastrados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os animais foram divididos em 4 grupos de 7. Durante o experimento, os ratos foram mantidos em grupos de 3 ou 4 animais por caixa, essas por sua vez, eram plásticas com medidas de 47 cm × 34 cm × 18 cm e forradas com madeira, além disso, permaneceram em um ciclo claro / escuro de 12 horas (luz de 7h00 às 19h00), temperatura de 22 ± 4 ° C. Alimentados com água e ração são fornecidas à vontade.

Por último, os ratos foram alocados aleatoriamente nos seguintes grupos: (1) *Sham-operated* (SO) + Veículo (NaCl); (2) SO + GLU; (3) LPVP + NaCl; (4) LPVP + GLU.

DESENVOLVIMENTO DO MODELO DE HP POR LPVP

Os animais foram sedados com anestésico de indução (4-5%) e manutenção (2-3%) com isoflurano diluído em O₂ 100% (fluxo de O₂ = 0,5L / min). Após receber a anestesia, foi realizada uma laparotomia e o intestino foi retraído suavemente com uma compressa de gaze embebida em solução salina. No grupo SO, foi efetuada apenas a manipulação da veia porta, enquanto nos demais grupos, a veia foi vinculada à indução experimental de HP. A agulha 20G foi colocada paralela à veia porta e ambas foram amarradas com fio de seda 3.0. Em seguida, a agulha foi retirada, deixando o vaso parcialmente obstruído para a indução da HP experimental. O modelo experimental utilizado neste estudo foi descrito pela primeira vez por Sikuler et al. (1985).

ADMINISTRAÇÃO DE VEÍCULOS E GLU

Foram permitidos sete dias para o estabelecimento da colonopatia hipertensiva portal antes do início do tratamento. GLU na dose de 25mg / Kg, o qual foi dissolvido em 0,6 mL de NaCl a 0,9% foi administrado por via intraperitoneal em concordância com estudos anteriores de Marques et al. (2011) e Zobot et al. (2017). Os animais controles receberam o veículo (solução salina - NaCl 0,9%) em um volume de 0,6 mL, por via intraperitoneal, pelo mesmo período. O tratamento foi continuado por 7 dias, completando assim toda a etapa experimental de 15 dias.

MEDIÇÃO DA PRESSÃO VENOSA PORTAL

No 15º dia de pós-operatório, os animais foram novamente sedados com anestesia de indução (4-5%) e manutenção (2-3%) com isoflurano diluído em O₂ 100% (fluxo de O₂ = 0,5L / min). Novamente, uma incisão mediana foi feita no abdômen (na linha alba), e posteriormente a veia mesentérica foi localizada, onde a medição da pressão portal foi feita, com um cateter calibre 21G inserido na veia mesentérica, conectado a um polígrafo que registrou a pressão no sistema portal (Blood Pressure XDCR, Kentc Scientific, Litchfield, CT, EUA)(MARQUES et al., 2011). Foi necessário um grupo piloto composto por 5 animais para a adequação do equipamento de avaliação de pressão.

MORTE ANIMAL E OBTENÇÃO DE AMOSTRAS

Após os procedimentos de medição, o intestino grosso foi coletado, para posterior análise.

1ª) Um pequeno fragmento das amostras foi retirado e imerso em formol a 10%, para posterior análise histológica;

2ª) O restante foi pesado e congelado a -80°C , para análise de lipoperoxidação, enzimas antioxidantes, nitritos e nitratos e milliplex.

AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS

Determinação do estresse oxidativo

O estresse oxidativo do intestino grosso foi avaliado medindo a concentração de TBARS. Resumidamente, o tecido congelado foi homogeneizado em 1,15% KCl (5 mL por g de tecido), 100 mM em isopropanol de fluoreto de fenil metil sulfonina (10 μL por mL de KCl adicionado) e centrifugado a 10 minutos a 3000 rpm (1110 xg) (LLESUY *et al.*, 1985). Para a análise de TBARS, a quantidade de produtos aldeídicos, gerados pela peroxidação lipídica, foi medida pela reação com ácido tiobarbitúrico utilizando 0,25 mL da proteína homogeneizada por amostra (BRADFORD, 1976).

As amostras foram incubadas a 100°C por 15 minutos após a adição de 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,67% em ácido tricloroacético 15% e, a seguir, centrifugadas por 10 min a 3000 rpm (1110 x g). A absorvância espectrofotométrica foi determinada no sobrenadante a um comprimento de onda de 535 nm. A concentração de TBARS é expressa em nmoles / mg de proteína (BUEGE; AUST, 1978).

Determinação da atividade da enzima SOD

A SOD citosólica foi avaliada espectrofotometricamente pela taxa de auto-oxidação da adrenalina (50 mM glicina-NaOH, pH 9,6) com 50 mL de adrenalina (60 mM, pH 2,0), correspondendo a 100% da reação. Que é progressivamente inibido por quantidades de SOD no homogenato. A atividade enzimática será expressa em unidades de SOD / g de tecido (quantidade de SOD que inibe em 50% a velocidade de redução da adrenalina) (MISRA; FRIDOVICH, 1972).

Medidas de nitrito e nitrato

A produção de NO no tecido intestinal foi medida indiretamente pela estratégia de detecção colorimétrica de radicais hidroxila com base na reação de Griess. Para realizar a técnica, foram necessários 500 mL de amostra, 100 mL de NADPH (0,2 mM), 70 mL de tampão Tris 1M, pH 7,5, 230 mL de uma mistura formada por glicose 6-fosfato (50 mM) e glicose 6-fosfato desidrogenase (100 U / mL), 100 mL de nitrato redutase (10 / mL), esta mistura foi incubada em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, foram utilizados 750 mL dessa mistura e foram adicionados 750 mL do reagente de Griess, incubando novamente em temperatura ambiente por 10 minutos. A leitura foi realizada em 550 nm e uma curva padrão foi feita para a determinação de nitritos e nitratos (MIURA *et al.*, 2003).

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO INTESTINO POR HEMATOXILINA E EOSINA

Para dissecação anatômica, as amostras de intestino foram colocadas em formalina a 10%. Na etapa seguinte, os blocos de parafina foram fixados no Micrótomo (Leitz®1512) e foram feitos cortes com 3 microns (3 μ). Na fase de coloração, as lâminas foram imersas em corantes de hematoxilina-eosina por 5 minutos cada, intermediado por banho de água corrente. Na fase de desidratação, as estruturas passaram por três recipientes com álcool absoluto e dois com xilol. A lamínula foi colocada na lâmina usando Balsam Canada ou Entellan, completando assim o processo de preparação.

As lâminas foram analisadas em microscópio binocular Nikon Labophot em diferentes aumentos, no serviço de patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por patologista cego para o experimento.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

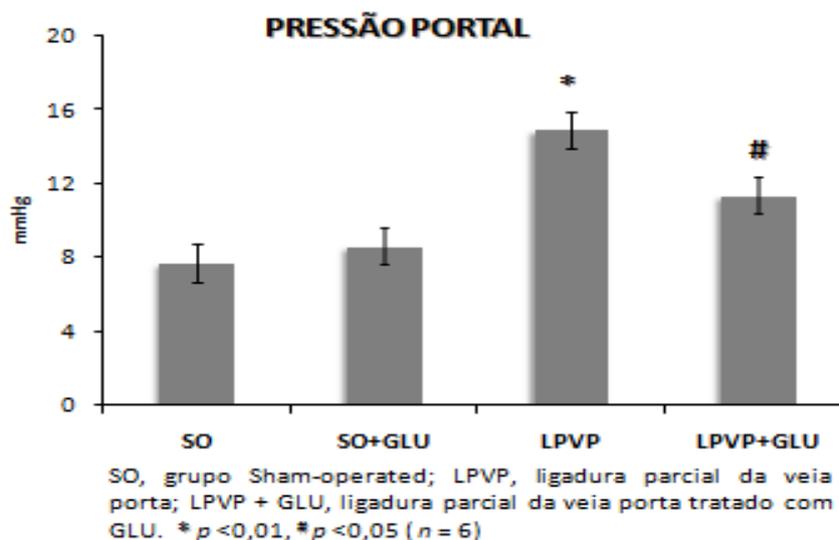
A partir dos dados coletados, foram calculadas as médias e desvios-padrão de cada grupo utilizando para a análise estatística o GrapPad Instat versão 3.0. O teste usado para a análise de variância dos resultados foi o ONEWAY ANOVA, seguido do exame de Student-Newman-Keuls para dados paramétricos. Portanto, os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando obtivemos nível de significância de pelo menos 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

VERIFICAÇÃO DE PRESSÃO PORTAL

Como pode ser observado na Figura 01, houve um aumento cativo estatisticamente significativo na pressão portal dos grupos de LPVP em relação aos demais grupos experimentais. E foi observado que ocorreu uma diminuição significativa nos valores de pressão portal em animais do grupo LPVP + GLU.

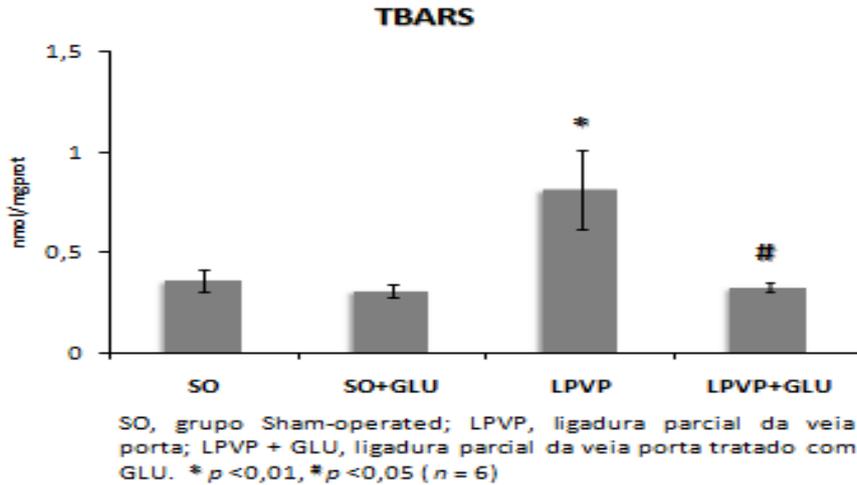
Figura 01 - Efeito da administração de GLU nos níveis de pressão portal nos grupos SO: Sham-operados, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU. Dados expressos como média \pm desvio padrão, $n = 7$ animais em cada grupo. As notações sobrescritas têm o seguinte significado: *: diferença significativa entre o grupo LPVP em relação aos demais grupos ($P < 0,01$). #: diferença significativa entre o grupo LPVP + GLU em comparação com o grupo LPVP ($P < 0,05$).



MEDIÇÃO DE TBARS

Os valores de lipoperoxidação intestinal (Figura 02) apresentaram aumento estatisticamente significativo no grupo LPVP, com $P < 0,01$ em relação a todos os outros grupos (SO, SO + GLU e LPVP + GLU). Os animais LPVP + GLU apresentaram diminuição significativa quando comparados ao grupo LPVP.

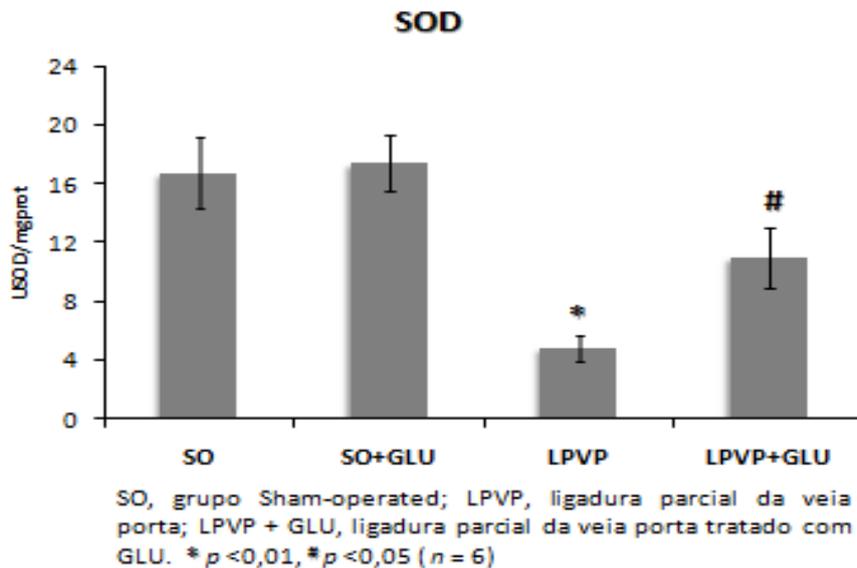
Figura 02 - Efeito da administração de GLU nos níveis de TBARS em grupos SO: Sham-operados, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU. Dados expressos como média ± erro padrão, n = 7 animais em cada grupo. As notações sobrescritas têm o seguinte significado: *: diferença significativa entre o grupo LPVP em relação aos demais grupos (P <0,01). #: diferença significativa entre o grupo LPVP + GLU em comparação com o grupo LPVP (P <0,05)



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SOD

A Figura 03 mostra os resultados da atividade da enzima SOD no homogenato intestinal dos animais nos diferentes grupos, que revelaram uma diminuição significativa no grupo LPVP em relação aos demais.

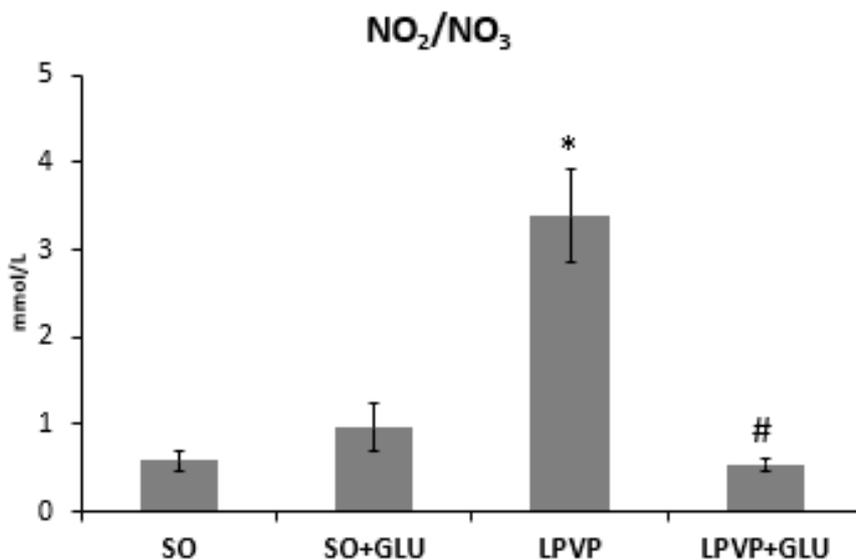
Figura 03 - Efeito da administração de GLU nos níveis de SOD em grupos SO: Sham-operados, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU. Dados expressos como média ± erro padrão, n = 7 animais em cada grupo. As notações sobrescritas têm o seguinte significado: *: diferença significativa entre o grupo VPPB em relação aos demais grupos (P <0,01). #: diferença significativa entre o grupo LPVP + GLU em comparação com o grupo LPVP (P <0,05)



AValiação DE METABÓLITOS DE NO

Na Figura 04, observamos os valores referentes aos nitritos e nitratos no homogenato do intestino de animais dos diferentes grupos experimentais. Desse modo, foi perceptível um aumento significativo das taxas metabólicas nos grupos LPVP em relação aos grupos SO, SO + GLU. Em contrapartida, houve uma diminuição significativa quando administrado GLU, no grupo LPVP + GLU.

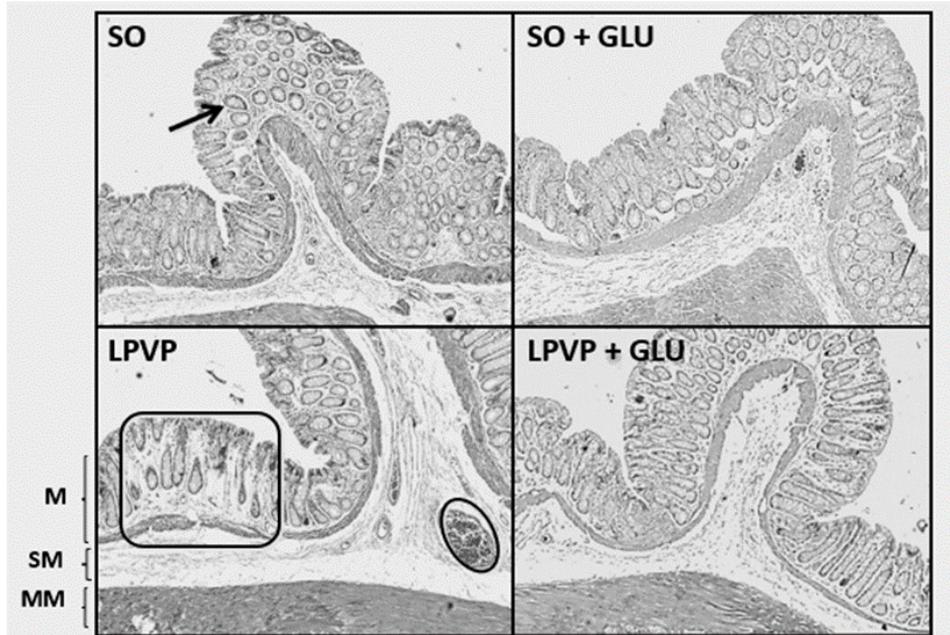
Figura 04 - Efeito da administração de GLU nos níveis de NO nos grupos SO: Sham-operados, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU. Dados expressos como média \pm erro padrão, n = 7 animais em cada grupo. As notações sobrescritas têm o seguinte significado: *: diferença significativa entre o grupo VPPB em relação aos demais grupos (P <0,01). #: diferença significativa entre o grupo LPVP + GLU em comparação com o grupo LPVP (P <0,05)



HISTOLOGIA INTESTINAL

A fotomicrografia do intestino dos animais (Figura 05) dos grupos controle (SO) e SO + GLU mostra o intestino com padrão normal apresentando criptas, células caliciformes, mucosa normal e submucosa sem edema. No grupo (LPVP), mostra alterações na mucosa, com diminuição das células caliciformes, dilatação dos vasos sanguíneos e edema. Na fotomicrografia do intestino dos animais do grupo LPVP tratado com GLU (LPVP + GLU), observa-se redução do edema, desaparecimento dos vasos sanguíneos dilatados e reestruturação da mucosa, à semelhança dos grupos controle.

Figura 05 - Observa-se a estrutura microscópica do intestino dos animais SO, SO + GLU, LPVP e LPVP + GLU.



DISCUSSÃO

O estudo da colopatia devido à HP é desafiador porque não existe um sistema de classificação universalmente aceito para classificar a gravidade das anormalidades da mucosa (URRUNAGA; ROCKEY, 2014). No presente estudo, utilizamos o modelo LPVP para induzir HP pré-hepática não cirrótica e foi realizada suplementação com GLU. O resultado obtido demonstrou que o GLU desempenha um papel antioxidante e possivelmente antiinflamatório no cólon.

Os resultados da pressão portal demonstraram a eficácia do modelo experimental em aumentar a pressão no sistema venoso. O tratamento com a GLU, observamos que houve redução do valor da pressão portal, uma vez que o grupo LPVP apresentou pressão elevada significativa em relação aos demais grupos. Além disso, é importante ressaltar que a GLU, no grupo controle, não tem efeito sobre a pressão na veia mesentérica dos animais. Os resultados alcançados estão de acordo com os obtidos por Marques *et al* (MARQUES *et al.*, 2011) quando utilizou o mesmo modelo experimental.

Em relação à lipoperoxidação, o estudo de Zobot *et al.* (ZABOT *et al.*, 2017), na HP, em modelo semelhante ao presente estudo, constatou-se aumento da lipoperoxidação nos animais submetidos ao procedimento de ligadura. Isso já era visto desde estudos mais antigos, como o realizado por Schimpl *et al.* (SCHIMPL *et al.*, 1996), em que a GLU reduziu a complicação da translocação bacteriana, bem como as atividades do malondialdeído (MDA) e da mieloperoxidase (MPO) da mucosa ileal. Mesmo usando outros parâmetros de verificação bioquímica, chegamos a como mudar o uso de GLU. Eles mediram a atividade de MDA e MPO na mucosa intestinal como um indicador de peroxidação lipídica.

Quanto aos resultados da atividade da enzima SOD no intestino, o estudo de Marques *et al.* (MARQUES *et al.*, 2011) também mostrou uma redução importante na atividade SOD gástrica no grupo

LPVP. A enzima SOD é a única que interage especificamente com o superóxido e, portanto, controla os níveis de ROS e espécies reativas de nitrogênio e, quando seus níveis são drasticamente alterados, causam efeitos nocivos notáveis (WANG *et al.*, 2018), como aconteceu no Grupo LPVP.

Quanto aos parâmetros de estresse nitrosativo, os elevados valores de nitrito e nitrato estão relacionados à produção de citocinas, perda da integridade da barreira intestinal e processo de translocação bacteriana. A morte dessas bactérias resulta na liberação de toxinas e estimula células do sistema imune inato a produzir citocinas, incluindo TNF- α e estimula o aumento da produção de NO, (SHENODA; BOSELLI, 2019) este aumento pode ser visto indiretamente, neste estudo, devido ao aumento de nitrito e nitrato. Atenuando esse mecanismo, a suplementação com GLU foi eficaz, determinando menores valores de compostos nitrogenados. Corroborando esse resultado, o estudo de Zobot *et al.* (ZABOT *et al.*, 2017) mostraram, neste mesmo modelo de HP, redução da atividade da iNOS e indução da iNOS pelo uso de GLU. E isso resulta da suplementação com aminoácido, não se restringindo ao GLU, como também foi observado com o conjugado de taurina para promover efeitos vasodilatadores por meio da modulação do NO derivado do endotélio intestinal (GUIZONI *et al.*, 2020).

Com relação aos resultados histopatológicos, foi possível perceber as alterações ocasionadas pelo LPVP, confirmando o sucesso da indução, além da percepção quanto reestruturação da mucosa devido ao uso de GLU. Essas alterações histopatológicas estão de acordo com outros estudos, sendo a ectasia capilar da mucosa colônica a principal alteração patológica, mas foi encontrado em biópsias de cólon de pacientes com HP, edema, aumento da infiltração de células mononucleares e proliferação fibromuscular na lâmina própria (URRUNAGA; ROCKEY, 2014).

CONCLUSÃO

Por meio dos resultados obtidos nos valores da pressão portal, concluímos que o grupo LPVP demonstrou um aumento significativo da pressão no sistema portal, podendo a GLU reduzir os valores neste modelo experimental. Ao avaliarmos a lipoperoxidação no grupo LPVP, pela técnica TBARS, concluímos que houve um aumento, sendo que o GLU foi eficaz na redução desse dano. A enzima antioxidante SOD apresentou diminuição significativa nos animais do grupo LPVP em relação aos demais. Enquanto no grupo LPVP + GLU a atividade dessa enzima foi restaurada. Ao avaliar metabólitos de NO, nitritos e nitratos, observamos um aumento significativo nos animais LPVP. O GLU foi capaz de reduzir a biodisponibilidade do NO. Na análise histológica, o grupo LPVP apresentou desarranjo da mucosa intestinal, com aumento do edema na submucosa. Contudo, o GLU foi capaz de restaurar a histologia semelhante aos controles. Com base nos resultados alcançados, descobrimos que o GLU minimizou os danos à mucosa intestinal, avaliados pela histologia, acompanhados por uma melhora nos parâmetros de estresse oxidativo (avaliados por TBARS e SOD) e uma redução nos metabólitos de NO. Assim, concluímos e sugerimos que a GLU foi eficaz na redução dos danos decorrentes do modelo no intestino e, portanto, pode ser proposta como alternativa terapêutica na atenuação desta doença.

REFERÊNCIAS

BOSCH, J. *et al.* The management of portal hypertension: Rational basis, available treatments and future options. **Journal of Hepatology**, [s. l.], vol. 48, no. SUPPL. 1, p. 68–92, 2008. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.01.021>

- BOYER-DIAZ, Z. et al. Oxidative stress in chronic liver disease and portal hypertension: Potential of dha as nutraceutical. **Nutrients**, [s. l.], vol. 12, no. 9, p. 1–13, 2020. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu12092627>
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], vol. 72, no. 1–2, p. 248–254, 1976. Available at: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Biomembranes - Part C: Biological Oxidations. **Methods in Enzymology**, [s. l.], vol. 52, p. 302–310, 1978. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687978520326>
- FERRAZ, A. A. B. et al. Atividade mioelétrica do intestino delgado de cães submetidos à oclusão parcial da veia porta. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, [s. l.], vol. 24, no. 1, p. 20–25, 2011. Available at: <https://doi.org/10.1590/s0102-67202011000100005>
- FIORUCCI, S.; DISTRUTTI, E.. Targeting the transsulfuration-H₂S pathway by FXR and GPBAR1 ligands in the treatment of portal hypertension. **Pharmacological Research**, [s. l.], vol. 111, p. 749–756, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.07.040>
- GUIZONI, D.M. et al. Modulation of endothelium-derived nitric oxide production and activity by taurine and taurine-conjugated bile acids. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, [s. l.], vol. 94, p. 48–53, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.10.008>
- KÖNIGSHOFER, P. et al. Animal models of portal hypertension. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, [s. l.], vol. 1865, no. 5, p. 1019–1030, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.07.018>
- LLESUY, S. F. et al. Comparison of lipid peroxidation and myocardial damage induced by adriamycin and 4'-epiadriamycin in mice. **Tumori**, [s. l.], vol. 71, no. 3, p. 241–249, 1985. Available at: <https://doi.org/10.1177/0300089168507100305>
- MAJID, S. et al. Factors determining the clinical outcome of acute variceal bleed in cirrhotic patients. **Indian Journal of Gastroenterology**, [s. l.], vol. 28, no. 3, p. 93–95, 2009. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12664-009-0034-z>
- MARQUES, C. et al. Glutamine prevents gastric oxidative stress in an animal model of portal hypertension gastropathy. **Annals of Hepatology**, [s. l.], vol. 10, no. 4, p. 531–539, 2011. Available at: [https://doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)31522-4](https://doi.org/10.1016/s1665-2681(19)31522-4)
- MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], vol. 247, no. 10, p. 3170–3175, 1972. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)45228-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)45228-9)
- MIURA, T.; MURAOKA, S.; FUJIMOTO, Y. Inactivation of creatine kinase induced by quercetin with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide: Pro-oxidative and anti-oxidative actions of quercetin. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], vol. 41, no. 6, p. 759–765, 2003. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(03\)00005-X](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(03)00005-X)
- NGUYEN, N. H.; TRAN, G. B.; NGUYEN, C. T.. Anti-oxidative effects of superoxide dismutase 3 on inflammatory diseases. **Journal of Molecular Medicine**, [s. l.], vol. 98, no. 1, p. 59–69, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00109-019-01845-2>

SCHIMPL, G. et al. Allopurinol and glutamine attenuate bacterial translocation in chronic portal hypertensive and common bile duct ligated growing rats. **Gut**, [s. l.], vol. 39, no. 1, p. 48–53, 1996. Available at: <https://doi.org/10.1136/gut.39.1.48>

SHENODA, B.; BOSELLI, J.. Vascular syndromes in liver cirrhosis. **Clinical Journal of Gastroenterology**, [s. l.], vol. 12, no. 5, p. 387–397, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12328-019-00956-0>

SIKULER, E.; KRAVETZ, D.; GROSZMANN, R. J. Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, [s. l.], vol. 11, no. 6, 1985. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1985.248.6.g618>

SIMONETTO, D. A. et al. Portal Hypertension and Related Complications: Diagnosis and Management. **Mayo Clinic Proceedings**, [s. l.], vol. 94, no. 4, p. 714–726, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.12.020>

TETANGCO, E. P. et al. Portal hypertension: Etiology, evaluation, and management. **Disease-a-Month**, [s. l.], vol. 62, no. 12, p. 411–426, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2016.08.001>

URRUNAGA, N. H.; ROCKEY, D. C. Portal hypertensive gastropathy and colopathy. **Clinics in Liver Disease**, [s. l.], vol. 18, no. 2, p. 389–406, 2014. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cld.2014.01.008>

WANG, Y. et al. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. **Journal of Cell Biology**, [s. l.], vol. 217, no. 6, p. 1915–1928, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1083/jcb.201708007>

ZABOT, G. P. et al. Glutamine prevents oxidative stress in a model of portal hypertension. **World Journal of Gastroenterology**, [s. l.], vol. 23, no. 25, p. 4529–4537, 2017. Available at: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i25.4529>

A EFICÁCIA DO TREINAMENTO RESISTIDO NO CONTROLE GLICÊMICO DE INDIVÍDUOS COM DIABETES TIPO 2: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

THE EFFECTIVENESS OF RESISTANCE TRAINING IN GLYCEMIC CONTROL OF INDIVIDUALS WITH TYPE 2 DIABETES: A SYSTEMATIC REVIEW

Wesley Mentz da Silva¹, Rafael Granemann Piola da Silva¹, Rosiane Guetter Mello²,
Camila Aparecida Moraes Marques^{2*}

¹Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba, PR, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Ensino nas Ciências da Saúde, Faculdades Pequeno Príncipe,
Curitiba, PR, Brasil

*Autor correspondente: Camila Aparecida Moraes Marques. e-mail:camilam14@gmail.com, Av. Iguaçu 333,
CEP 80230-020, Curitiba, PR, Brasil.
Telefone: (41)99917-6689

RESUMO

Introdução: O diabetes melito tipo 2 (DM2) é caracterizado por hiperglicemia crônica desencadeada por resistência periférica à insulina, secreção deficiente de insulina e aumento da produção hepática de glicose. Diversos estudos demonstraram que os exercícios aeróbios são capazes de melhorar o perfil glicêmico dos pacientes com DM2. Apesar disso, existem poucos de estudos que se dedicaram a investigar os benefícios do treinamento resistido nessa população. O objetivo dessa revisão foi buscar, analisar e sintetizar a literatura recente publicada no contexto de treinamento resistido e controle glicêmico em pacientes com DM2. **Método:** Revisão sistemática de literatura elaborada utilizando-se as bases de dados ScienceDirect e PubMed, sem restrição de localização geográfica, com os descritores "Resistance training", "type 2 diabetes" e "glycemic control", que foram integrados utilizando o booleano "AND". **Resultados:** Dentre 755 artigos encontrados, foram selecionados 6 artigos publicados entre 2011 e 2020. Feito isto, foram observadas reduções significativas nos níveis de HbA1c e da glicemia em jejum em voluntários participantes de estudos que fizeram o uso de protocolos de treinamento com volumes e intensidades elevadas. **Conclusões:** O treinamento resistido pode ser eficaz em reduzir os níveis glicêmicos em pacientes com DM2. É possível que exista uma relação dose-dependente entre o volume de treino e as reduções esperadas nos níveis de glicose sanguínea. Entretanto, são necessários estudos com maior tempo de duração para avaliar a persistência e a validade dos resultados encontrados até o momento.

Palavras-chaves: Diabetes Melito tipo 2; Treinamento Resistido; Controle Glicêmico.

ABSTRACT

Introduction: Type 2 diabetes mellitus (DM2) is characterized by chronic hyperglycemia triggered by peripheral insulin resistance, impaired insulin secretion and increased hepatic glucose production. Several studies have shown that aerobic exercises are able to improve the glycemic profile of DM2 patients. Nevertheless, there are few studies that have been dedicated to investigate the benefits of resistance training in this population. The aim of this review was to search, analyze and

synthesize the current literature published in the context of resistance training and glycemic control in DM2 patients. Method: Systematic elaborate literature review using the ScienceDirect and PubMed databases, without restriction of geographical area, with the descriptors "Resistance training", "type 2 diabetes" and "glycemic control", which were integrated using the Boolean "AND''. Results: From 755 articles found, 6 published articles between 2011 and 2020 were meticulously selected. By doing so, significant reductions in HbA1c and fasting blood glucose levels were observed in volunteers participants in studies that used training protocols with high volume and high intensities. Conclusions: Resistance training can be effective in reducing glycemic levels in patients with DM2. It is possible that there is a dose-dependent relationship between training volume and expected reductions in blood glucose levels. However, longer lasting studies are needed to evaluate the persistence and validity of the results achieved so far.

Keywords: Type 2 diabetes; Resistance training; Glycemic control.

INTRODUÇÃO

O DM2 é uma doença do pâncreas endócrino, caracterizada por hiperglicemia crônica desencadeada, por resistência periférica à insulina, secreção deficiente de insulina e aumento da produção hepática de glicose. É responsável por 90 a 95% dos casos de diabetes e é mais frequentemente observada em adultos obesos com mais de 40 anos. No DM2 os indivíduos apresentam resistência à insulina e algum grau de deficiência insulínica, ainda que não total, diferentemente de indivíduos diabéticos do tipo 1 (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION et al., 2018; VILAR, Lúcio et al., 2001).

Apesar de ser uma condição frequentemente associada à população adulta, a incidência da doença em crianças e adolescentes vem aumentando de maneira exponencial, devido às mudanças no estilo de vida, experimentadas pela civilização ocidental durante o processo de industrialização e globalização. A vida sedentária combinada com a ingestão exagerada de calorias, contribui de maneira significativa para o aumento dos casos de DM2 (DEFRONZO, 2004). Dentre os fatores de risco associados ao desenvolvimento da doença destacam-se: a obesidade presente em 80% dos pacientes e a síndrome metabólica presente em cerca de 70 a 90% (KITAGAWA, Teruo et al., 1998; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION et al., 2015). No Japão, o DM2 se tornou mais prevalente que o diabetes tipo 1 entre as crianças e é responsável por cerca de 80% dos casos em adultos (KITAGAWA, Teruo et al., 1998; ALBERTI, G. et al., 2004).

Em condições adequadas, o organismo humano dispõe de 4 mecanismos que atuam na regulação das concentrações de glicose no sangue: (1) secreção de insulina, (2) captação de glicose pelos tecidos, (3) supressão da produção hepática de glicose, (4) ingestão ou administração de glicose e outros nutrientes (DEFRONZO, 2004). A hiperglicemia crônica observada em indivíduos com DM2 é resultado da disfunção desses mecanismos homeostáticos, por meio de longos períodos de ingestão calórica inadequada, inatividade física, tabagismo, hipertensão arterial descontrolada, etilismo, além de, idade e fatores genéticos (YOUNG, 2002; RAO, 2015).

A patogênese da doença pode ser representada de maneira simplificada em uma linha do tempo, a qual inicia com um indivíduo portador de uma pré-disposição genética, exposto a fatores ambientais como sedentarismo e ingestão calórica excessiva. Além disso, os maus hábitos levam a um ganho crônico de gordura subcutânea e visceral, principalmente na região abdominal, que causará - um quadro de resistência insulínica progressiva generalizada. Por isso, em uma tentativa de

manter a glicemia em concentrações adequadas, o indivíduo passará a apresentar hiperinsulinemia com tolerância inalterada à glicose em fases iniciais e posteriormente irá evoluir com tolerância diminuída ou intolerância à glicose. Em sequência ocorre falência progressiva de células beta, diminuindo a capacidade do pâncreas de produzir e secretar insulina. No momento, em casos em que o indivíduo apresenta glicemia em jejum ≥ 126 mg/dl (em duas ocasiões), glicemia ao acaso ≥ 200 mg/dl ou hemoglobina glicada (HbA1C) $\geq 6,5\%$ o indivíduo pode ser considerado diabético. (DEFRONZO, 2004; VILAR, 2001).

Existem diversas formas de insulina injetável e de hipoglicemiantes orais. O principal hipoglicemiante oral conhecido é a metformina, que atua principalmente inibindo a gliconeogênese, além de aumentar a sensibilidade à insulina. Existem também medicamentos que atuam nas vias das incretinas de polipeptídeo inibitório gástrico (GIP) e peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), que em condições normais são liberadas no período pós-prandial pelo intestino e atuam no pâncreas estimulando a liberação de insulina e inibindo a secreção de glucagon. Os agonistas do GLP-1 ativam os receptores de GLP-1, visando imitar o efeito do hormônio endógeno, que tem sua produção e eliminação prejudicada em condições de resistência à insulina. Há ainda os inibidores da dipeptidil peptidase-4 (DPP-4), inibidores do co-transportador sódio-glicose (SGLT-2), sulfonilureias e uma série de outros hipoglicemiantes orais disponíveis para o tratamento do DM2 (DEFRONZO, 2004; VILAR, 2001; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

Apesar do amplo arsenal terapêutico disponível, o DM2 não tem cura e o tratamento tem como objetivo reduzir as complicações associadas à doença, bem como, retardar seu progresso. Por se tratar de uma condição fortemente associada com o comportamento do indivíduo ao longo da vida, o manejo do paciente diabético deve englobar mudanças nos hábitos de vida pela adoção de uma rotina de exercícios físicos e de um planejamento alimentar adequado, de forma a normalizar os níveis glicêmicos circulantes via fármacos, ao mesmo tempo é possível utilizar as medidas não farmacológicas para remover ou controlar os fatores ambientais que levaram ao desenvolvimento da doença, com vistas a melhorar o perfil metabólico do paciente (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION et al., 2015).

Dentre as medidas não farmacológicas recomendadas para o paciente diabético, o exercício físico desempenha um papel muito importante. Esse exercício estruturado, também chamado de treinamento físico, pode ser definido como a prática de algum tipo de atividade física que ocorre repetidamente de maneira planejada e estruturada, levando em conta as demandas e as individualidades em questão, divergindo da prática de exercícios ao acaso e sem orientação. A atividade física pode ser dividida de maneira didática em duas categorias: Exercício aeróbio e exercício resistido. O treinamento aeróbio consiste na realização de atividades físicas sem a resistência de carga ou peso externo, como andar, correr, pedalar, nadar etc, enquanto o treinamento resistido, objeto desse estudo, engloba as atividades físicas que são realizadas contra uma resistência ou carga externa tendo como principal exemplo a musculação (EVANS, 2019).

Diversos estudos demonstraram que exercícios aeróbios são eficazes em promover benefícios metabólicos como melhora de perfil lipídico e redução dos níveis de glicose sanguínea (DEVLIN et al., 1985). Em comparação, existe um número muito menor de estudos que se dedicaram a investigar os benefícios da prática de treinamento resistido em pacientes diabéticos tipo 2 e os resultados se apresentaram de maneira controversa em diversas ocasiões.

Dentre as diversas adaptações observadas em indivíduos praticantes de treinamento resistido destacam-se melhorias na densidade óssea, força física, massa muscular e taxa metabólica basal. Em contrapartida os adultos que não praticam treinamento resistido ou atividades de força regularmente perdem aproximadamente 0,5 kg de massa muscular por ano, a partir dos 50 anos (BRAITH et al., 2007; NELSON et al., 1994). Estima-se que a musculatura esquelética seja responsável por cerca de 70 a 90% da captação periférica de glicose em períodos pós-prandiais (DEFRONZO, 1981; BARON, 1988).

O objetivo dessa revisão foi buscar, sintetizar e analisar a literatura recente publicada no contexto de treinamento resistido e controle glicêmico em pacientes diabéticos tipo 2, compilando uma série de ensaios clínicos randomizados publicados na última década. A discussão foi elaborada de forma a integrar o que já existe de robusto na literatura, com uma análise crítica dos resultados apresentados pelos estudos experimentais selecionados para integrar esse trabalho.

MÉTODO

ORGANIZAÇÃO DA BUSCA

Objetivamos identificar nas bases de dados estudos em inglês ou português realizados entre 2011 e 2020. Escolhemos os descritores “Resistance training”, “type 2 diabetes” e “glycemic control”, que foram integrados utilizando o booleano “AND”. Todos os descritores estão presentes no DeCS/MeSH. As buscas foram realizadas nas bases de dados ScienceDirect e PubMed, sem restrição de localização geográfica.

ESTRATÉGIA DE BUSCA

A busca nas bases de dados foi estruturada de maneira que o título e o resumo dos artigos fossem analisados. As palavras-chave foram organizadas da seguinte forma: (Resistance training AND type 2 diabetes AND glycemic control). Na base de dados PubMed o filtro “Randomized Controlled Trial” foi marcado, o período foi ajustado para 2011 até 2020 e a busca resultou em 30 artigos. Já na base de dados ScienceDirect os filtros “Research Articles” e “Medicine and Dentistry” foram marcados, o intervalo de tempo foi ajustado para 2011 até 2020 e a busca resultou em 725 artigos. Não foram incluídas nas buscas palavras relacionadas ao design do estudo, porém essa questão foi avaliada na seleção dos artigos.

SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Inicialmente os dois autores examinaram de maneira independente o título e o resumo dos artigos encontrados, visando excluir os estudos que atendessem aos seguintes critérios de exclusão:

- Artigos de revisão, meta-análises ou editoriais
- Estudos não escritos em inglês ou português
- Estudos qualitativos
- Estudos que não abordam treinamento resistido e DM2
- Estudos em animais

Dessa forma, cada autor finalizou esse processo com uma lista de artigos a serem incluídos. Posteriormente, os resultados foram comparados, e as divergências acerca da inclusão ou exclusão de

artigos foram resolvidas em consenso. Após essa etapa, houve a exclusão de investigações duplicadas, assim restaram 4 artigos encontrados na base de dados ScienceDirect e 10 artigos encontrados na base de dados PubMed, totalizando 14 artigos. Em sequência, os artigos foram revisados e lidos na íntegra por todos os pesquisadores de maneira independente visando excluir artigos que atendessem aos seguintes critérios de exclusão:

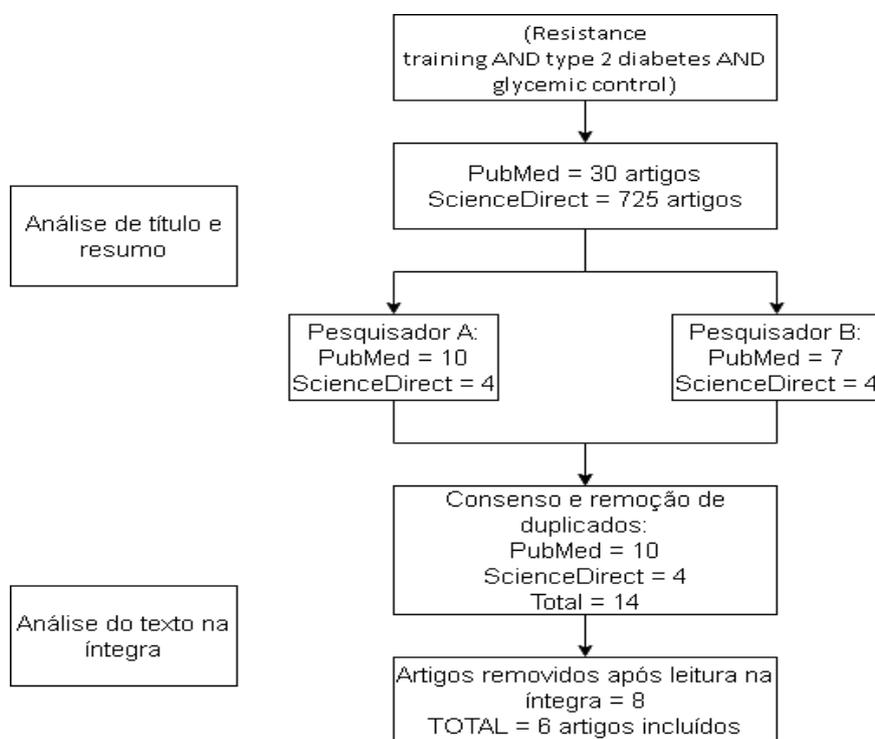
- Estudos que não apresentem desfechos
- Estudos que não avaliem a relação de treinamento resistido e controle glicêmico
- Estudos com tempo de duração < 4 semanas
- Estudos com sessões de treinamento com tempo < 30 minutos diários
- Estudos que propõe intervenção dietética combinada com treinamento

Nessa etapa 8 artigos foram removidos, restando os 6 artigos que foram incluídos nesta investigação. A Imagem 1 ilustra o fluxo de seleção dos artigos, desde as buscas iniciais até a lista final de inclusão.

EXTRAÇÃO DE DADOS

Os artigos selecionados foram revisados separadamente por cada um dos autores, que extraiu e documentou as seguintes informações: o nome do estudo, o ano de publicação, a localização, os objetivos, o método, a intensidade do exercício, a duração do estudo, a população, o tamanho da amostra, as variáveis avaliadas, o volume de treino aplicado aos participantes, a presença nos treinos, os desfechos observados, as limitações e conclusões. Os dados obtidos foram colocados em uma planilha de Microsoft Excel.

Figura 1: Fluxo de busca e seleção de artigos



AValiação DO RISCO DE VIÉS

A avaliação do risco de viés foi executada com o auxílio da ferramenta MERSQI (Medical Education Research Study Quality Instrument). O MERSQI é um instrumento para avaliar, além de quantificar o risco de viés e qualidade metodológica de estudos médicos experimentais. Também contempla 10 itens, cada um composto por tópicos menores classificados em 6 domínios, incluindo design do estudo, amostra, tipo de dados, validade das pontuações dos instrumentos de avaliação, análise de dados e desfecho.

RESULTADOS

DESCRIÇÃO DOS ARTIGOS SELECIONADOS

A Tabela 1 apresenta um resumo das informações consideradas relevantes para análise adequada dos desfechos dos artigos selecionados.

Dentre os 6 artigos inclusos na análise, 2 foram conduzidos na América do Sul, 2 na Ásia, 1 na América do Norte e 1 na Europa. Todos os estudos são Ensaio Clínico Randomizado e foram publicados entre 2011 e 2020. Em todos os estudos foram incluídos protocolos de treinamento compostos por exercícios tradicionais: leg press, extensão de joelho, flexão de joelho, abdução de quadril, supino inclinado, supino reto, remada baixa, rosca bíceps, desenvolvimento, extensão de cotovelo e flexão de tronco.

Na maioria dos artigos selecionados ($n = 4$) o tempo de intervenção foi de 12 semanas e em metade ($n = 3$) a intensidade estabelecida pelo protocolo de treinamento foi moderada, sendo que, para sua avaliação, foram considerados o método da escala de percepção subjetiva de esforço (PSE). Quatro estudos utilizaram medidas de HbA1c e glicemia em jejum para avaliação de desfechos primários, enquanto outros dois utilizaram somente glicemia em jejum ou HbA1c. O percentual de presença dos participantes nas sessões de treinamento agendadas foi de aproximadamente 88%, com exceção do trabalho de Mogharnasi et al. (2019) que não informou acerca das ausências nas sessões.

Quatro estudos informaram os tempos de intervalos prescritos para os participantes. Em média, o tempo de intervalo entre os exercícios foi de 180 segundos e o tempo de repouso entre séries foi de 60 segundos. Dois estudos fizeram o uso de pausa de 90 segundos entre as séries nas quatro semanas finais do protocolo escolhido.

A intensidade dos treinos inclusos nos protocolos propostos pelos estudos foi classificada em baixa, moderada e alta intensidade, levando em consideração os dados fornecidos pelas investigações e a literatura já existente (SALLES et al., 2020). Classicamente o volume total de um protocolo de treinamento segue a fórmula tradicional (n° de séries x repetições x carga x frequência), porém, optamos por expressar o volume em séries como sugerido por Baz-Valle et al. (2021) por se tratar de uma medida simplificada, que pode se comportar como uma variável representativa do volume total de treinamento, já que a carga e o número de repetições estão implicitamente representados na intensidade do treino.

No estudo de Kadoglou et al. (2012) foram observados como desfechos reduções significativas nos níveis de HbA1c ($p < 0,02$) e da glicemia em jejum ($p < 0,001$) dos voluntários após 12 semanas de treinamento de média e alta intensidade. Participaram do estudo 52 homens e mulheres com 61,3

anos em média, fazendo o uso de hipoglicemiantes orais e com diagnóstico de DM2 há 6 anos em média. Os treinamentos ocorreram três vezes na semana e a taxa de presença dos participantes nas sessões foi a maior dentre os estudos selecionados (91%).

Em Mogharnasi et al. (2019), 30 mulheres de 40 a 55 anos fazendo o uso de metformina e glibenclamida foram randomizadas em 3 grupos e submetidas aos protocolos de treinamento pertinentes a cada grupo. Dez participantes integraram o grupo que realizou três sessões semanais de treinamento resistido com intensidades progressivas durante dez semanas. Após a intervenção, o grupo apresentou melhora significativa nos níveis de glicemia em jejum ($p < 0,001$), que inicialmente se encontrava na faixa de 182 ± 48 mg/dL e ao final do estudo 138 ± 43 mg/dL, enquanto o controle iniciou o estudo com a glicemia em jejum entre 159 ± 30 mg/dL e finalizou com 175 ± 40 mg/dL.

Os demais estudos selecionados ($n = 4$) utilizaram protocolos com volumes e intensidades de treino intermediárias ou baixas. Quanto aos participantes, nenhum desfecho relevante relacionado ao controle glicêmico foi observado, apenas melhoras em alguns parâmetros secundários que não são do escopo desse trabalho.

Tabela 1: Síntese das informações relevantes para análise adequada dos artigos selecionados

Artigo	Intensidade estimada	População	Tempo de intervenção	Volume de treino (semanas)	Presença	Resultados
(BOTTON <i>et al.</i> , 2018)	← Intensidade moderada (50-70% 1RM)	A) 44 indivíduos randomizados em 2 grupos; B) homens e mulheres; C) idade >60 anos; D) diagnosticados com DM2; E) não usuários de insulina; F) todos os participantes faziam uso de hipoglicemiantes orais.	12 semanas	A) 18 séries/semana nas primeiras 4 semanas; B) 27 séries/semana da 5ª a 8ª semana; C) 27 séries/semana da 9ª a 12ª semana. D) Total = 288 séries	87.3 ± 9.8%	Sem alterações estatisticamente significantes nos valores de HbA1c e Glicemia em jejum.
(RECH <i>et al.</i> , 2019)	← Intensidade moderada (50-70% 1RM)	A) 39 indivíduos randomizados em 2 grupos; B) homens e mulheres; C) idade >60 anos; D) diagnosticados com DM2; E) não usuários de insulina.	12 semanas	A) 60 séries/semana nas primeiras 4 semanas; B) 90 séries/semana da 5ª a 8ª semana; C) 90 séries/semana da 9ª a 12ª semana; D) Total = 960 séries.	87.3 ± 9.8%	Sem alterações estatisticamente significantes nos valores de HbA1c e Glicemia em jejum.
(HSIEH <i>et al.</i> , 2018)	← Intensidade moderada (50-70% 1RM) progressiva.	A) 30 indivíduos randomizados em 2 grupos; B) homens e mulheres; C) 65-80 anos; D) diagnosticados com DM2; E) HbA1c < 10%.	12 semanas	A) 72 séries/semana; B) Total = 864 séries.	88.7%	Sem alterações estatisticamente significantes nos valores de HbA1c e Glicemia em jejum.
(BENHAM <i>et al.</i> , 2020)	↑ Intensidade elevada (>70% 1RM)	A) 186 indivíduos randomizados em 3 grupos; B) homens e mulheres; C) diagnosticados com DM2.	26 semanas	A) 63 séries/semana; B) Total = 1638	85.9%	Sem alterações estatisticamente significantes nos valores de HbA1c e Glicemia em jejum.
(KADOGLU <i>et al.</i> , 2012)	←/↑ Intensidade moderada/elevada (>50% 1RM)	A) 52 indivíduos randomizados em 2 grupos; B) homens e mulheres; C) idade média de 61.3 ± 2.1 anos; D) fazendo o uso de hipoglicemiantes orais; E) IMC >25 kg/m ² ; F) diagnosticados com DM2	12 semanas	A) 72 séries/semana; B) Total = 864 séries.	91 ± 4%	A) ↓ HbA1c após a intervenção em relação ao GC ($p = 0.02$); B) ↓ Glicemia em jejum após a intervenção em relação ao GC ($p < 0.001$)
(MOGHARNASI <i>et al.</i> , 2019)	↓/←/↑ Intensidade baixa/moderada/elevada (30-50%, 50-70%, >70% 1RM) de maneira progressiva.	A) 30 indivíduos randomizados em 3 grupos; B) mulheres; C) 40-55 anos; D) diagnosticadas com DM2; E) em uso de metformina e glibenclamida.	10 semanas	A) 81 séries/semana; B) Total = 810 séries.	N/I	A) ↓ Glicemia em jejum após a intervenção em relação ao GC ($p < 0.001$)

DISCUSSÃO

Dois dos ensaios clínicos randomizados elegíveis para análise foram capazes de demonstrar uma melhora significativa no perfil glicêmico dos participantes expostos à intervenção. Kadoglou et al. (2012) e Mogharnasi et al. (2019) exploraram protocolos de treinamento de alta intensidade durante a realização do estudo e optaram por volumes de treino superiores a 70 séries/semana durante 12 e 10 semanas respectivamente. Um terceiro estudo (BENHAM et al., 2020) estabeleceu protocolos de intensidade elevada durante 26 semanas, com um volume de 63 séries semanais, porém, sem alterações

significativas no perfil glicêmico dos indivíduos. Contudo, esse foi o estudo que mais registrou faltas dentre os seis, o que resultou em um volume 15% menor do que o planejado inicialmente.

O volume é a variável mais importante a ser controlada em uma prescrição de treinamento resistido visando aumento da força e hipertrofia. Apesar de não existir consenso na literatura acerca da quantidade de volume ideal, alguns estudos sugerem uma relação dose-dependente entre volume, aumento de força e espessura muscular. Em um estudo conduzido em indivíduos saudáveis por Brigatto et al. (2020) foram comparados os efeitos da realização de três diferentes esquemas de treinamento com (G1) 80, (G2) 120 e (G3) 160 séries semanais a uma intensidade elevada (>70% 1RM), divididos entre 9 exercícios diferentes e 4 sessões de treinamento na semana por 8 semanas. No grupo que foi submetido à quantidades maiores de volume foram observados, pela ultrassonografia e qualidade muscular, aumentos significativos na espessura dos segmentos musculares avaliados (bíceps, tríceps e vasto lateral) da ordem de 3,1%, 7,0% e 9,4% ($p < 0,001$), enquanto no grupo submetido ao menor volume foram constatados aumentos de 0,5%, 0,8% e 2,1%. Nesse sentido, os resultados sugerem que esquemas de alta intensidade somados ao maior número de séries semanais, é mais eficaz ao promover mudanças desejáveis na composição corporal dos praticantes. (BRIGATTO et al., 2020).

Em paralelo, os estudos de Kadoglou et al. (2012) e Mogharnasi et al. (2019) que optaram por esquemas com volumes e intensidades, que na média foram superiores aos demais, obtiveram melhores desfechos nos valores de HbA1c e glicemia em jejum. Curiosamente, um desses estudos registrou o maior número de presenças nas sessões enquanto outro não relatou nenhuma informação acerca de faltas. Algumas investigações relataram um percentual de presença médio de 87,3%, porém com variações importantes entre os indivíduos, com voluntários participando de um número próximo de 100% das sessões, enquanto outros faltaram cerca de 20%. Tal discrepância pode ser apagada durante os cálculos das médias e mascarar desfechos positivos em indivíduos que realizaram as atividades adequadamente. Além disso, protocolos planejados para oferecer um volume intermediário podem acabar se transformando em esquemas de baixo volume por conta das ausências, especialmente quando se tratam de faltas consecutivas.

Um estudo publicado em 2005 (CAUZA et al., 2005) obteve reduções significativas nos níveis de HbA1c e glicemia em jejum em voluntários submetidos a um regime de treinamento de 10 exercícios, três vezes na semana, em intensidade moderada e elevada. Os volumes aplicados chegaram a 180 séries na semana. Após quatro meses de intervenção, os voluntários apresentaram reduções de 25% na glicemia em jejum ($p < 0,002$) e 15% na HbA1c ($p < 0,04$), além de uma diminuição de 9,7% na massa gorda. Portanto, a partir dessas observações é possível sugerir a hipótese de que existe uma relação dose-dependente entre volume e benefícios esperados nas medidas de glicemia em jejum e HbA1c.

A maioria dos pacientes diabéticos apresentam concomitantemente outras condições nas quais também há benefício em praticar exercícios, sendo as mais frequentes: obesidade, síndrome metabólica e hipertensão arterial sistêmica (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION et al., 2018; VILAR et al., 2001). Nesse contexto, o treinamento resistido de moderada e alta intensidade associado a volumes de treinos moderados e elevados também se mostrou eficaz em melhorar parâmetros associados às condições concomitantes ao DM2 como perfil lipídico, pressão arterial e composição corporal, apontando uma possibilidade de intervenção não farmacológica muito interessante, para o manejo de diversas doenças, como terapia adjacente e para promoção de saúde (CAUZA, Edmund et al., 2005; BRIGATTO, Felipe A. et al., 2019; NELSON, Miriam E. et al. 1994; EVANS, Parker L. et al. 2019). Também

existem benefícios ao associar atividades aeróbicas com o exercício resistido conforme demonstraram Benham et al. (2020) e Delagardelle et al. (1999).

Existem fatores limitantes que dificultam a análise dos estudos em questão. O primeiro é a ausência de informações acerca do desempenho dos participantes nos treinamentos, que impossibilitam concluir, qual seria a efetividade dos protocolos de treinamento à análise dos resultados. O segundo, é a grande variabilidade de resultados possíveis para dosagem da glicemia em jejum, que podem produzir relações de significância estatística falhas em um contexto de estudos com pequeno número de participantes. A HbA1c surge como alternativa por se tratar de uma variável menos volátil. Como a maioria ($n = 5$) dos estudos analisados teve duração ≤ 12 semanas, é muito provável que os valores finais obtidos de HbA1c não sejam completamente representativos, visto que a mensuração dessa variável sofre influência dos 3 meses anteriores, o que resulta em um valor presente com algum grau de herança estatística. Talvez seja necessário que os estudos sejam conduzidos com um melhor monitoramento dos participantes, no que tange ao desempenho das atividades físicas, para que as variáveis utilizadas para avaliação de desfechos primários forneçam valores mais realistas.

CONCLUSÃO

O treinamento resistido pode ser eficaz em reduzir os níveis glicêmicos em pacientes com DM2. Os estudos que utilizaram de protocolos de treinamento com volume e intensidade mais elevados apresentaram os melhores resultados, enquanto intensidades associadas a volumes de treino intermediários ou baixos, não se mostraram eficazes em promover reduções significativas nos valores de HbA1c e glicemia em jejum.

É possível que exista uma relação dose-dependente entre o volume de treino e as reduções esperadas nos níveis de glicose sanguínea, entretanto são necessários estudos com maior tempo de duração para avaliar a persistência e a validade dos resultados encontrados até agora.

REFERÊNCIAS

- ALBERTI, G. et al. Type 2 Diabetes in the Young: the evolving epidemic. **Diabetes Care**, [S.L.], v. 27, n. 7, p. 1798-1811, 25 jun. 2004. American Diabetes Association.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION et al. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2018. **Diabetes care**, v. 41, n. Supplement 1, p. S13-S27, 2018.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION et al. 8. Cardiovascular disease and risk management. **Diabetes care**, v. 38, n. Supplement 1, p. S49-S57, 2015.
- BARON, A. D. et al. Rates and tissue sites of non-insulin-and insulin-mediated glucose uptake in humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 255, n. 6, p. E769-E774, 1988.
- BAZ-VALLE, E. et al. Total number of sets as a training volume quantification method for muscle hypertrophy: a systematic review. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 35, n. 3, p. 870-878, 2021.
- BENHAM, Jamie L. et al. Significant Dose-Response between Exercise Adherence and Hemoglobin A1c Change. **Medicine & Science In Sports & Exercise**, [S.L.], v. 52, n. 9, p. 1960-1965, 16 mar. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

- BOTTON, Cíntia E. et al. Effects of resistance training on neuromuscular parameters in elderly with type 2 diabetes mellitus: a randomized clinical trial. **Experimental Gerontology**, [S.L.], v. 113, p. 141-149, nov. 2018. Elsevier BV.
- BRAITH, Randy W.; BECK, Darren T. Resistance exercise: training adaptations and developing a safe exercise prescription. **Heart failure reviews**, v. 13, n. 1, p. 69-79, 2008.
- BRIGATTO, Felipe A. et al. High Resistance-Training Volume Enhances Muscle Thickness in Resistance-Trained Men. **Journal of strength and conditioning research**, 2019.
- CAUZA, Edmund et al. The Relative Benefits of Endurance and Strength Training on the Metabolic Factors and Muscle Function of People With Type 2 Diabetes Mellitus. **Archives Of Physical Medicine And Rehabilitation**, [S.L.], v. 86, n. 8, p. 1527-1533, ago. 2005.
- DEFRONZO, R. et al. Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. **The Journal of clinical investigation**, v. 68, n. 6, p. 1468-1474, 1981.
- DEFRONZO, R. et al. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Medical clinics**, v. 88, n. 4, p. 787-835, 2004. Vilar endocrinologia clínica
- DEVLIN, J. et al. Effects of Prior High-Intensity Exercise on Glucose Metabolism in Normal and Insulin-resistant Men. **Diabetes**, [S.L.], v. 34, n. 10, p. 973-979, 1 out. 1985. American Diabetes Association.
- EVANS, P. et al. Regulation of skeletal muscle glucose transport and glucose metabolism by exercise training. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2432, 2019.
- HSIEH, P. et al. Resistance Training Improves Muscle Function and Cardiometabolic Risks But Not Quality of Life in Older People With Type 2 Diabetes Mellitus: a randomized controlled trial. **Journal Of Geriatric Physical Therapy**, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 65-76, abr. 2018. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).
- KADOGLU, N. et al. The effects of resistance training on ApoB/ApoA-I ratio, Lp(a) and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes. **Endocrine**, [S.L.], v. 42, n. 3, p. 561-569, 11 mar. 2012. Springer Science and Business Media LLC.
- KITAGAWA, T. et al. Increased incidence of non-insulin dependent diabetes mellitus among Japanese schoolchildren correlates with an increased intake of animal protein and fat. **Clinical pediatrics**, v. 37, n. 2, p. 111-115, 1998.
- MOGHARNASI, M. et al. The Effects of Resistance and Endurance Training on Levels of Nesfatin-1, HSP70, Insulin Resistance and Body Composition in Women with Type 2 Diabetes Mellitus. **Science & Sports**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 15-23, fev. 2019. Elsevier BV.
- NELSON, M. et al. Effects of high-intensity strength training on multiple risk factors for osteoporotic fractures: a randomized controlled trial. **Jama**, v. 272, n. 24, p. 1909-1914, 1994.
- RAO, P. Type 2 diabetes in children: clinical aspects and risk factors. **Indian journal of endocrinology and metabolism**, v. 19, n. Suppl 1, p. S47, 2015.
- RECH, A. et al. Effects of short-term resistance training on endothelial function and inflammation markers in elderly patients with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. **Experimental Gerontology**, [S.L.], v. 118, p. 19-25, abr. 2019. Elsevier BV.
- SALLES, B. et al. 11ed. Método de treinamento para força e hipertrofia : da teoria à prática. Belo Horizonte: Livro na Mão, 2020. 128 p.

VILAR, L. et al. **Endocrinologia clínica**. In: Endocrinologia clínica. 2001. p. 939-939.

YOUNG, T. et al. Type 2 diabetes mellitus in children: prenatal and early infancy risk factors among native Canadians. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 156, n. 7, p. 651-655, 2002.

ESTUDO OBSERVACIONAL COM PACIENTES HOSPITALIZADOS EM TRATAMENTO COM VARFARINA

OBSERVATIONAL STUDY WITH HOSPITALIZED PATIENTS TREATED WITH WARFARIN

Camile Nutti^{1*}; Daniel Fernandes²

¹Hospital Regional Hans Dieter Schmidt, Joinville, Brasil.

²Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Farmacologia, Florianópolis, Brasil

*Autor correspondente: Camile Nutti, Rua Brasil, 387, bairro Saguacú, Joinville, SC, CEP: 89221561

Telefone: (47) 999942157

Email: camile_nutti@hotmail.com

RESUMO

A varfarina é um anticoagulante oral de ampla utilização, com diversas indicações na prática clínica. Entretanto, apresenta diversos inconvenientes que podem interferir no sucesso terapêutico, como por exemplo, a estreita faixa terapêutica, variabilidade na relação dose-resposta, extensa interação com medicamentos e alimentos, necessidade de controle laboratorial periódico e ajustes de dose frequentes. O objetivo deste trabalho foi identificar os potenciais interferentes na resposta à terapia anticoagulante oral com varfarina, bem como elaborar um protocolo de acompanhamento farmacoterapêutico. O estudo observacional prospectivo foi realizado em um único centro, com grupo único de indivíduos, em hospital público geral. O recrutamento de pacientes ocorreu entre março e junho de 2021, com inclusão de pacientes que atenderam aos critérios de inclusão e aceitaram participar do estudo. Os desfechos analisados foram tempo de permanência hospitalar, tempo até razão normalizada internacional (RNI) alvo, manejo de doses e alta com RNI em faixa alvo, número de medicamentos e presença de potenciais interações medicamentosas. O tempo médio para atingir RNI alvo foi de 4,5 dias. Durante a internação 69,2% dos pacientes observados atingiram RNI alvo, entretanto apenas 50% tiveram alta com valores na faixa alvo para a indicação. A média de comorbidades por indivíduo foi de 4,38, e média de 9,4 medicamentos prescritos por paciente, com 4,8 potenciais interações medicamentosas por paciente. Os resultados observados apontam diversas oportunidades para a atuação do farmacêutico no cuidado a este paciente, de forma a contribuir para a qualidade e segurança deste tratamento.

Palavras-chave: Anticoagulante; Coeficiente Internacional Normalizado; Cuidado farmacêutico.

ABSTRACT

Warfarin is a widely used oral anticoagulant, with several indications in clinical practice. However, several inconveniences can interfere with therapeutic success, such as the narrow therapeutic range, variability in the dose-response relationship, extensive drug and food interactions, periodic laboratory control and frequent dose adjustments. Thus, the aim of this study was to identify potential interferences of oral anticoagulant therapy with warfarin and develop a pharmacotherapeutic follow-up protocol. It was a single center, prospective observational study, with a single group of individuals, conducted in a public hospital. The recruitment of patients was performed between

March and June 2021, including patients who met the inclusion criteria and accepted the invitation to participate in the study and signed an informed consent form. The outcomes studied were length of hospital stay, time to reach therapeutic levels, dose management for target international normalized ratio (INR) and discharge with INR in the target range, number of medications and presence of potential drug interactions. Median time to reach target INR was 4.5 days. During hospitalization 69.2% of the patients reached a target INR, however only 50% were discharged with INR values in the target range for the indication. The average of comorbidities per patient was 4.38, and an average of 9.4 drugs prescribed per patient was observed, with 4.8 potential drug interactions per patient. The observed results point to several opportunities for the pharmacist to promote patient care to contribute for the quality and safety of patients treatment.

Keywords: Anticoagulant; International Normalized Ratio; Pharmaceutical care.

INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida populacional e, conseqüentemente, o envelhecimento, constituem um fator de risco para doenças tromboembólicas. Os medicamentos anticoagulantes apresentam consistente evidência para uso no tratamento e prevenção destas condições. Mesmo com o surgimento de novos agentes anticoagulantes para uso clínico, a varfarina permanece sendo o anticoagulante oral de ampla aplicação por seu baixo custo e vasta experiência clínica. Seu emprego na prática clínica data de mais de 60 anos, sendo indicada no tratamento do tromboembolismo venoso (TEV), profilaxia do tromboembolismo na fibrilação atrial (FA), em pacientes com próteses cardíacas (válvares) e outras condições de risco (LORGA FILHO et al., 2013).

Apesar de ser o pilar da anticoagulação oral há décadas, o tratamento com varfarina apresenta uma série de inconvenientes que podem interferir no sucesso terapêutico e trazer riscos ao paciente, como alto número de potenciais interações medicamentosas, regime posológico que exige ajustes regulares, variabilidade individual na resposta ao tratamento e necessidade de monitorização laboratorial contínua, além de risco de sangramentos (DAHAL et al., 2016; GUIDONI, 2012).

O desafio da prática clínica de contrabalancear o efeito antitrombótico ideal e o risco de eventos hemorrágicos é agravado pela estreita faixa terapêutica da varfarina (BLIX et al., 2010; YACOBI et al., 2000). A dose subterapêutica pode resultar em maiores riscos de eventos trombóticos, enquanto a anticoagulação excessiva impõe risco de hemorragias. Outro agravante é o fato de a varfarina apresentar variabilidade na relação dose-resposta (POTPARA; FERRO; LIP, 2018). Ainda, polimorfismos genéticos podem influenciar sua farmacocinética e farmacodinâmica (RUFF, 2018).

Considerando todos os desafios da prática clínica no tratamento com varfarina, o acompanhamento farmacoterapêutico é fundamental para prevenir possíveis problemas relacionados ao uso do medicamento. O farmacêutico clínico possui o conhecimento para contribuir para o uso racional integrando a equipe multidisciplinar de cuidado, orientando e conscientizando o paciente sobre o tratamento e, dessa forma, colaborando para a redução da possibilidade de interações e intoxicações e, conseqüentemente, para melhor adesão e segurança (BARBOSA et al., 2018).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi identificar os potenciais interferentes na resposta à terapia anticoagulante oral com varfarina e elaborar um protocolo de acompanhamento farmacoterapêutico que possa contribuir para o sucesso do tratamento.

MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo observacional prospectivo, realizado em um único centro, com grupo único de indivíduos, em um hospital público geral no município de Joinville, Santa Catarina, que realiza atividades de ensino, pesquisa e assistência. É integrado ao Sistema Único de Saúde, sendo referência na atenção de média e alta complexidade para a população do município de Joinville e região.

O recrutamento de pacientes foi realizado no período compreendido entre março e junho de 2021. Foram incluídos no estudo pacientes que atenderam aos critérios de inclusão e que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Os pacientes elegíveis deveriam atender aos seguintes critérios: pacientes internados, de ambos os sexos, com 18 anos ou mais, estar em terapia com varfarina, ter a razão normalizada internacional (RNI) fora da faixa terapêutica para a indicação. Não foram incluídos no estudo pacientes com as seguintes características: suspeita ou confirmação para Covid-19 (em fase de transmissão), em terminalidade (fim de vida) ou incapaz de se comunicar. Ao longo do estudo foi realizada coleta de dados no prontuário eletrônico dos pacientes utilizando informações da prescrição médica, das evoluções médicas e multiprofissionais e dos exames laboratoriais. O período de análise compreendeu desde a internação até a saída do paciente da unidade hospitalar.

Por se tratar de um estudo observacional, os critérios para a prescrição da varfarina quanto à indicação, dose e tempo de tratamento couberam exclusivamente aos médicos da instituição, não havendo interferência dos pesquisadores.

As principais características e desfechos deste estudo foram analisados descritivamente. Os dados qualitativos foram descritos por meio de distribuição de frequência simples e percentual. Os dados quantitativos foram descritos como média ou mediana, acompanhadas pelo desvio padrão e intervalo interquartil, respectivamente. Foram avaliados dados demográficos e características clínicas, como a presença de comorbidades e indicação para o uso da varfarina. Os desfechos analisados foram tempo de permanência hospitalar, tempo para se alcançar níveis terapêuticos, manejo de dose para RNI alvo e alta com RNI em faixa alvo, número de medicamentos e presença de potenciais interações medicamentosas. A correlação de Pearson foi calculada para examinar a força das associações em variáveis quantitativas e normalmente distribuídas. Um valor de *p* inferior a 0,05 foi considerado significativo.

O presente estudo foi submetido à Plataforma Brasil para apreciação tendo sido aprovado pelo comitê de ética e pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, registrado sob o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 27710119.7.0000.0121 e pelo CEP do Hospital Regional Hans Dieter Schmidt SES/SC, registrado sob o CAAE: 27710119.7.3001.5363.

RESULTADOS

Durante o período do estudo 13 pacientes foram incluídos na análise, sendo 53,8% do sexo masculino (*n* = 7). A idade média observada foi $61,9 \pm 12,5$ anos e a faixa etária na qual foi alocada a maioria dos pacientes foi > 60 anos (61,5%). O principal desfecho clínico foi a alta hospitalar (92,3%). As principais indicações para o uso da varfarina no momento da internação foram: fibrilação atrial (*n* = 9; 69,2%), prótese valvar (*n* = 2; 15,4%) e eventos embólicos (*n* = 2; 15,4%). Seis (46,2%) participantes já faziam uso da varfarina previamente e sete (53,8%) fizeram uso do medicamento pela primeira vez durante a internação. Todos os participantes que já faziam uso da varfarina anteriormente tinham mais de 60 anos.

Em relação às doenças progressivas apresentadas pelos participantes, as mais comuns foram hipertensão arterial sistêmica (n=10; 76,9%) e fibrilação atrial (n = 9; 69,2%), seguidas por diabetes (n = 6; 46,2%) e insuficiência cardíaca (n= 5; 38,5%). Do total de pacientes, vale destacar que quatro (30,8%) tinham histórico de acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico prévio e três (23,1%) tiveram infarto agudo do miocárdio prévio a atual internação. Os pacientes foram acompanhados por um período variável, incluindo-se dados desde o primeiro dia de internação até a saída da instituição hospitalar. A média de dias de internação foi de 16,2, sendo o mínimo de cinco dias e o máximo de 54 dias (Tabela 1).

Tabela 1 – Dados demográficos e características clínicas dos participantes.

Caracterização dos participantes (n = 13)	n	%
Faixa etária (anos)		
18 – 60	5	38,5
> 60	8	61,5
Sexo		
Masculino	7	53,8
Feminino	6	46,2
Indicação de uso da varfarina		
Fibrilação atrial	9	69,2
Prótese valvar	2	15,4
Tromboembolismo pulmonar	1	7,7
Tromboembolismo venoso	1	7,7
Desfecho		
Alta hospitalar	12	92,3
Transferência	1	7,7
	Média	Desvio padrão
Idade	61,9	12,5
Número de comorbidades por participante	4,38	1,89
Dias de internação	16,2	13,4

Ao correlacionar as comorbidades com a idade dos indivíduos foi possível observar que, quanto maior a idade dos participantes, maior número de comorbidades apresentavam ($p < 0,05$). No teste de correlação linear foi possível também observar relação significativa ($p < 0,05$) entre número de medicamentos e comorbidades, indicando que quanto maior o número de doenças que um participante apresenta, mais complexa se torna sua prescrição.

Ao analisar as doses prescritas do medicamento, foi observado que a dose média ($4,9 \pm 2,25$) fica bem aproximada da dose de 5 mg, usualmente utilizada para inícios de tratamento. A dose média e por faixa podem ser visualizadas na **Tabela 2**. Ao comparar as doses de varfarina de participantes com idade superior a 60 anos, foi encontrada média de $4,9 \pm 2,2$ neste grupo e $5,0 \pm 2,7$ para participantes com menos de 60 anos, não apresentando diferença estatística significativa.

O valor médio da RNI dos pacientes sob tratamento com varfarina foi de 2,414, sendo a média para o sexo feminino equivalente a 2,803 e para o sexo masculino de 2,081 (**Tabela 3**).

Tabela 2 – Distribuição da dose média e faixa de dose de varfarina.

Dose de varfarina	n = 13	Medida de dispersão
Dose durante internação (mg/dia)		
Média	4,9	
Mediana	5	2,25(DP)
Mínima	2,5	1,25 (IIQ)
Máxima	10	
	n	%
Faixa de dose (mg/dia)		
≤ 2,5	3	23,1
> 2,5 a < 5,0	3	23,1
≥ 5,0 a < 7,5	5	38,5
≥ 7,5 a 10,0	2	15,4

DP: desvio padrão; IIQ: Intervalo Interquartil

Tabela 3 – Razão normalizada internacional por participante.

Razão Normalizada Internacional	n	%
Alvo RNI atingido durante internação		
Sim	9	69,2
Não	4	30,8
Alta com RNI na faixa para indicação		
Sim	6	50
Não	6	50
Alta com RNI acima da faixa	2	16,7
Alta com RNI abaixo da faixa	4	33,3
	Média	Desvio padrão
Tempo para RNI alvo em dias	4,5	2,20
Feminino	4,5	3,11
Masculino	4,5	1,29
Número de exames realizados por participante	5,3	3,88
RNI média	2,414	1,75
Feminino	2,803	2,52
Masculino	2,081	0,76
	Mediana	Intervalo interquartil
RNI mediana	1,943	0,83
Feminino	1,915	0,69
Masculino	1,943	1,02

Um participante foi transferido por complicações pela Covid 19 e na ocasião já não fazia uso de varfarina, por este motivo não foi incluído na avaliação da faixa da RNI na alta.

A RNI média para o sexo feminino foi fortemente influenciada por um valor de 14,4, sendo que, por ter apenas três exames realizados para a participante em questão e com dois valores altos, sua média individual foi de 7,703. Neste caso a mediana (1,915) é o valor que melhor representa os dados dos indivíduos deste grupo.

A faixa alvo para a RNI de todos os participantes observados foi estabelecida entre 2,0 e 3,0, conforme verificado nas evoluções médicas em prontuário. Dentre todos, nove (69,2%) atingiram

RNI alvo para a indicação em algum momento da internação, sendo quatro mulheres (44,4%) e cinco homens (55,6%). Apesar disso, nem todos tiveram os resultados do exame estabilizados. Destes, seis (66,7%) participantes atingiram níveis elevados de RNI (4,0 a 6,0: n = 3; 6,1 a 9,0: n = 2; > 9,1: n = 1). Dentre os nove participantes que chegaram ao alvo, seis (66,7%) tiveram alta com RNI na faixa proposta. Dois (16,7%) foram liberados com RNI em valor acima da faixa alvo especificada para a indicação, com orientações para seguimento ambulatorial. Quatro (33,3%) participantes não chegaram a atingir o alvo desejado durante a permanência hospitalar e receberam alta com RNI abaixo do alvo, também com orientações para seguimento ambulatorial.

Dos nove participantes que atingiram o alvo estabelecido para RNI, em apenas sete (77,8%) foi possível evidenciar o tempo em dias para o alvo, sendo a média de 4,6 dias \pm 2,4. Considerando os sete indivíduos em que foi evidenciado tempo para o alvo, foi possível determinar a dose em miligramas (mg) de varfarina utilizada para cada participante no período para que a RNI chegasse até a faixa desejada (**Tabela 4**).

Tabela 4 – Dose total por participante para alvo da RNI.

Dose (mg)	Tempo para alvo (dias)	Idade
10	2	53
10	3	60
10	3	64
20	5	57
25	6	62
30	4	35
40	9	80

Neste estudo a média de exames realizados por paciente foi de 5,3 \pm 3,88. Não foi observada concordância com a frequência proposta no protocolo institucional para a determinação de valores da RNI. Ao correlacionar o grupo de participantes que excedeu o alvo da RNI com os participantes que não chegaram ao alvo, foi possível observar que o primeiro teve uma média de realização de exames maior que o segundo (7 vs 3,9; correlação de Pearson, $p < 0,05$). Mesmo em participantes que tiveram exames solicitados com regularidade foi observado manejo das doses em desacordo com o proposto no protocolo institucional.

Para quatro participantes com RNI acima do alvo, no qual a recomendação seria omitir a dose seguinte, houve um atraso de 24 horas até que a conduta fosse tomada. Para um participante a demora foi de 48 horas. De forma inversa, também houve atraso na reintrodução do medicamento. Um participante que estava com RNI elevado teve medicamento suspenso por três dias consecutivos, tendo RNI retornado para a faixa alvo no terceiro dia. Neste dia a dose não precisaria permanecer suspensa e a ausência da dose ocasionou uma queda da RNI abaixo da faixa alvo. Após este fato, o tempo para o participante voltar a atingir a faixa alvo foi de nove dias com dose diária de 2,5 mg de varfarina.

Com relação ao uso de medicamentos, foi encontrada uma média de 9,4 \pm 2,97 medicamentos prescritos por participante. A média de medicamentos e interações pode ser vista na **Tabela 5**. Ao considerar interações medicamentosas foi verificada uma média de 4,8 \pm 2,49 potenciais interações por participante.

Tabela 5 – Medicamentos e interações medicamentosas por participante.

Medicamentos	Média	Desvio padrão
Total de medicamentos por participante	9,4	2,97
Feminino	10	2,33
Masculino	8,8	3,51
Interações		
Potenciais interações medicamentosas por participante	4,8	2,49
Feminino	4,0	2,76
Masculino	5,4	2,23

Na avaliação das prescrições, foi observado que todos os participantes receberam, em algum momento durante a internação, ao menos um medicamento com potencial de interação com a varfarina. O máximo de interações observadas foi de oito para dois participantes e o mínimo foi de uma interação para outro participante. Foram detectados 22 medicamentos com potencial de interação. As potenciais interações medicamentosas com varfarina encontradas no estudo podem ser visualizadas na **Tabela 6**. Estas foram analisadas e classificadas conforme sua categoria e severidade utilizando a base de dados Lexicomp® Drug Interactions. Quanto à categoria, são classificadas em: A – nenhuma interação conhecida; B – nenhuma ação necessária; C – monitorar terapia; D – considerar modificação da terapia; X – evitar combinação. Já em relação à severidade, são classificadas em maior, moderada e menor (**Quadro 1**). A grande maioria das interações (91%) encontradas potencializam o efeito anticoagulante da varfarina, enquanto apenas 9% reduzem seu efeito.

Tabela 6 – Potenciais interações medicamentosas e sua ação sobre a varfarina.

Potencializa o efeito (n = 20)	Ocorrência	Categoria de risco	Severidade
ácido acetilsalicílico	6	D	maior
alopurinol	2	D	moderada
amitriptilina	2	C	moderada
ampicilina+sulbactam	2	C	moderada
cetoprofeno	1	D	moderada
clopidogrel	2	C	maior
digoxina	2	B	menor
dipirona	3	D	moderada
enoxaparina	6	C	moderada
fluoxetina	2	C	moderada
heparina	3	C	moderada
hidrocortisona	1	C	moderada
lactulose	1	C	moderada
levotiroxina	1	C	moderada
metronidazol	1	D	maior
omeprazol	5	C	moderada
paracetamol	2	C	moderada
piperacilina+tazobactam	1	C	moderada
quetiapina	1	C	moderada
sinvastatina	8	C	moderada
Reduz o efeito (n = 2)			
espironolactona	7	B	moderada
metformina	1	C	moderada

Quadro 1 – Classificação da severidade de interações medicamentosas.

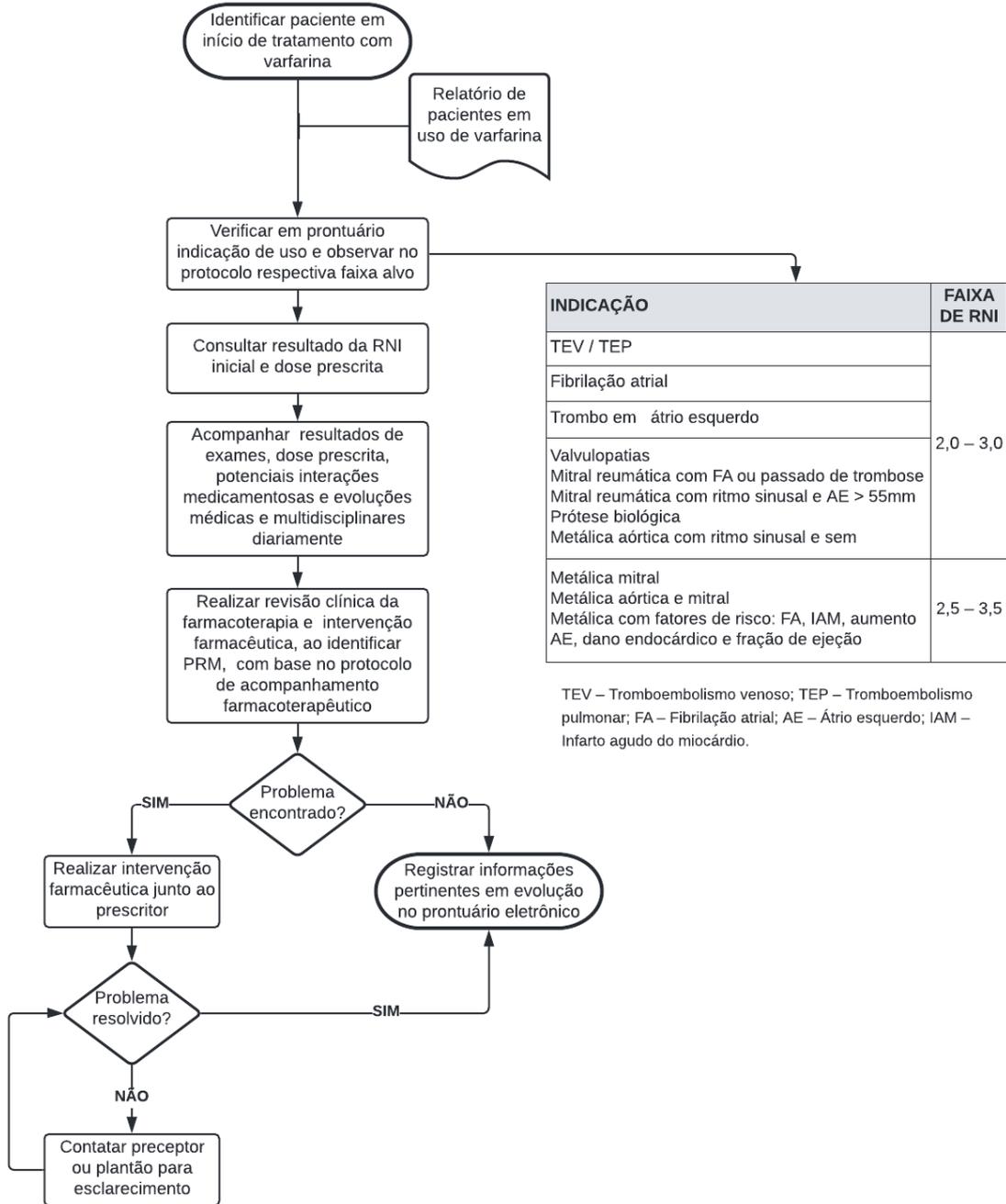
Grau de severidade	Descrição
Maior	Interação pode ser fatal e/ou exigir intervenção médica para minimizar ou prevenir eventos adversos graves.
Moderada	Interação pode resultar na exacerbação da condição do paciente e/ou exigir modificação na terapia.
Menor	Interação com efeitos clínicos limitados. Pode acarretar aumento na frequência ou gravidade dos efeitos colaterais. Geralmente não requer alteração na terapia.

Fonte: Adaptado de Armahizer *et al.*, 2013 prospective evaluation of DDIs at a large, tertiary care academic medical center in a 10-bed cardiac intensive care unit (CCU).

Atualmente o Lexicomp® Drug Interactions lista 265 resultados para a busca de interações com a varfarina, sendo distribuídos nas categorias X = 8, D = 37, C = 191, B = 28, A = 1. Em alguns casos a interação é atribuída a uma classe, portanto o número de medicamentos que interagem individualmente com a varfarina é ainda maior.

A partir da observação e percepção da grande variabilidade da resposta ao anticoagulante varfarina e com base em todos os desfechos observados, foi possível elaborar um fluxo de trabalho, que determina os passos a serem seguidos durante o acompanhamento (**Figura 2**).

Figura 2 – Fluxo de trabalho para acompanhamento farmacoterapêutico de paciente em uso de varfarina.



DISCUSSÃO

A maioria dos pacientes (61,5%) encontravam-se com mais de 60 anos, sendo tal resultado esperado, considerando que comorbidades e processos tromboembólicos apresentam maior prevalência com a idade avançada (BORGIO; SANCHES; KIHARA, 2013).

Outros estudos realizados, que procuraram identificar o diagnóstico para indicação da varfarina, também apontaram a fibrilação atrial como o principal diagnóstico médico que leva os pacientes a iniciarem a anticoagulação oral, seguida por eventos embólicos e uso de prótese valvar (KITAHARA et al., 2014; LONG et al., 2010).

A existência de comorbidades, usualmente definida como a presença simultânea de dois ou mais problemas de saúde crônicos, contribui para a complexidade do manejo terapêutico e pode impactar negativamente nos desfechos para a saúde do paciente (MASNOON et al., 2017). Ao correlacionar as comorbidades com a idade dos indivíduos foi possível observar que quanto maior a idade dos participantes, maior o número de comorbidades apresentadas ($p < 0,05$). Isso confirma que a idade é um fator preditivo e de risco para determinadas condições (SCHNABEL et al., 2015).

Dentre as comorbidades mais encontradas no estudo está a hipertensão arterial sistêmica, a qual, por si só, compõe um fator de risco para sangramentos em pacientes anticoagulados (HINDRICKS et al., 2021) e está associada com maior risco de AVC e sangramentos em pacientes com FA (ZHENG et al., 2019). Dados semelhantes no tocante a comorbidades foram observados em outros estudos com pacientes anticoagulados (LASTÓRIA et al., 2014; KITAHARA et al., 2014).

Foram encontrados poucos estudos que relatassem o tempo necessário para pacientes atingirem a faixa terapêutica desejada. A análise mais comumente encontrada é a que avalia o TTR (do inglês *Time in Therapeutic Range*), ou seja, quanto tempo o paciente permanece na faixa terapêutica pretendida durante o tratamento (PIVATTO JÚNIOR et al., 2017) in addition to relating the score obtained with the occurrence of adverse events in patients with nonvalvular atrial fibrillation (AF. Pelo curto período de acompanhamento esta análise não foi realizada neste estudo. Os estudos que mensuram tempo para alvo, em geral, avaliam a diferença de tempo usando doses distintas (5 e 10 mg). Crowther e colaboradores (1999), bem como Quiroz e colaboradores (2006) observaram tempo médio de 5 dias para o alvo (sem diferença significativa entre as doses), resultado semelhante ao encontrado neste estudo que obteve média de 4,6 dias para o alvo.

Em outro estudo, autores relataram que o tempo médio para o alvo terapêutico foi significativamente menor quando utilizada uma dose de ataque de 10 mg em comparação com a dose de 5 mg (4,2 vs 5,6 dias) (KOVACS et al., 2003). Pode-se observar dados semelhantes para os participantes que tiveram dose inicial de 10 mg, tendo, de fato, uma média menor de tempo para atingir alvo em relação a participantes com dose de 5 mg (3 vs 4,3 dias).

No acompanhamento de pacientes em clínica de anticoagulação, alguns autores observaram que apenas 16% dos pacientes atingiram a faixa alvo nos primeiros cinco dias de tratamento. Concluíram que a dose de varfarina durante a segunda e terceira semanas foram altamente preditiva da “dose estável” dos pacientes, já que 84% atingiram o alvo até o 14º dia e 98% até o 21º dia de tratamento e que não é necessariamente a mesma dose requerida para atingir o nível terapêutico da RNI (MOHEBBI; HONARVAR; BEHZADI, 2008). Esses dados atestam a dificuldade de se atingir o alvo em curtos períodos e mostram a importância do acompanhamento do paciente em uso de anticoagulação oral mesmo após a alta hospitalar e, de fato, pode-se observar nos prontuários dos participantes estudados que todos receberam orientações para continuar seguimento em ambulatório após a alta.

Ao observar a dose média (em mg) por participante ($4,9 \pm 2,25$) e mediana (5), encontrou-se estudo que obteve dado semelhante com média de $5,1 \pm 1,8$ mg e mediana de 5 mg (GUIDONI, 2012). Estes números demonstram que a terapêutica está em conformidade com as doses sugeridas em diretrizes nacionais e internacionais para o início de tratamento com varfarina. Apesar de não ter

sido observada uma diferença relevante entre as médias de dose de varfarina de participantes com idade superior a 60 anos ($4,9 \pm 2,2$) com pacientes com menos de 60 anos ($5,0 \pm 2,7$), estudos recomendam que idosos recebam doses mais baixas de varfarina. Em duas meta-análises foram observadas evidências de que doses iniciais mais baixas são mais adequadas para idosos, levando a menor ocorrência de RNI elevada (HENEGHAN et al., 2010; KEELING et al., 2011; MAHTANI et al., 2012) and current evidence is lacking to determine the optimal strategy for initiation of therapy. Methods: We included randomized controlled trials in patients commencing anticoagulation with warfarin, comparing different loading dose or different regimens. We searched Medline, EMBASE, the Cochrane Library and the NHS Health Economics Database up to June 2009. Primary outcomes were time to stable INR and adverse events. We summarised results as proportion of INRs in range from date of initiation and compared dichotomous outcomes using relative risks (RR). Isso consolida o observado neste estudo, pois, para três participantes idosos, a equipe médica optou por iniciar o tratamento com dose de 2,5 mg por dia. Tal ajuste é justificado, pois a necessidade de doses mais baixas pode estar relacionada com a menor capacidade de metabolização em idosos. Os ajustes subsequentes foram realizados com base em resultados da RNI.

Do ponto de vista farmacológico, possíveis razões para que alguns participantes não tenham atingido a faixa alvo do tratamento com varfarina e/ou não tenham mantido os exames no alvo são a ocorrência de potenciais interações medicamentosas, que podem diminuir ou potencializar a ação anticoagulante do medicamento, além da estreita faixa terapêutica da varfarina, que impõe desafio à equipe de saúde na determinação da dose ideal, bem como a variabilidade individual dos indivíduos em relação à resposta ao tratamento. Estes aspectos podem interferir no tratamento de forma que o participante atinja níveis supraterapêuticos do medicamento, representado neste estudo pelos participantes que extrapolaram os valores desejados da RNI.

A alta de paciente em uso de varfarina sem o alvo da RNI estável não se fazia comum na instituição há alguns anos. A prática clínica prezava por seguir o protocolo institucional que determina a alta do paciente que, a partir do sétimo dia de tratamento, tivesse duas medições da RNI consecutivas no alvo.

Entretanto, a pandemia da Covid 19 influenciou nesta decisão por dois motivos: a escassez de leitos não Covid disponíveis, fazendo com que fosse ainda mais importante a gestão da alta para o giro de leitos nas unidades hospitalares, de forma que haja leitos disponíveis para atender à demanda e, ainda, a necessidade de minimizar o tempo de exposição do paciente a uma potencial contaminação pelo vírus em ambiente hospitalar. Entretanto, apesar do esforço compreensível, esta prática pode causar uma série de inconvenientes, especialmente na definição da dose semanal calculada para o paciente, já que a RNI não está estabilizada e a resposta do paciente ao tratamento é ainda imprevisível.

Apesar de a motivação para alta hospitalar ter ocorrido de forma mais precoce, a liberação de dois participantes com a RNI acima da faixa alvo compõe um risco importante, pois a permanência em faixa superior à pretendida aumenta os riscos de eventos hemorrágicos. Estudo finlandês que incluiu 101.588 pacientes em uso de varfarina observou que os eventos hemorrágicos apresentaram um pico nos primeiros 30 dias de tratamento, evento que possivelmente estaria relacionado à dificuldade de alcançar a estreita faixa terapêutica da RNI (RIKALA et al., 2016). O mesmo fato foi observado por outros estudos, nos quais os eventos hemorrágicos ocorreram em importante número de pacientes no primeiro mês de tratamento (GOMES et al., 2013; HYLEK et al., 2007).

Em todos os estudos os eventos hemorrágicos mais graves ocasionaram o óbito de pacientes. De forma equivalente, também existe risco associado à RNI abaixo da faixa alvo. Os quatro pacientes que foram liberados com valores de RNI menores que o alvo estabelecido podem ficar suscetíveis a eventos tromboembólicos, tal qual foi observado em estudo no qual 46 pacientes com evento isquêmico apresentaram RNI subterapêutica média de 1,7 (CAO et al., 2017).

Foi possível observar a dificuldade no manejo das doses de varfarina para chegar à faixa alvo. Apesar de a média de dose da varfarina diária estar bastante próxima da dose usualmente utilizada, pode-se perceber a importante diferença na dose total requerida por participante naqueles que atingiram o alvo, impactando no tempo para chegar à faixa desejada, o que reafirmou a variabilidade individual na resposta ao anticoagulante (COLET; AMADOR; HEINECK, 2017; JOHNSON et al., 2011; KITAHARA et al., 2014).

Para dois participantes não foi possível visualizar o tempo ou estabelecer a dose necessária para atingir a faixa alvo. Para um dos participantes o motivo foi o grande intervalo ocorrido entre as solicitações de exames. Por seis dias não houve solicitação de tempo de protrombina (TP), sendo que a RNI no primeiro exame era de 1,332, e, no exame seguinte, após seis dias, a RNI foi de 5,020. Foi o mais longo período observado entre solicitações.

Neste intervalo o participante recebeu a dose diária de 5 mg de varfarina. Na ocasião deste resultado a varfarina foi suspensa da prescrição, tendo sido administrada vitamina K (fitomenadiona) por via oral durante três dias para a reversão do efeito do anticoagulante e redução da RNI. Para o segundo participante, o motivo pelo qual não foi possível determinar o tempo para chegada ao alvo, foi que no primeiro exame realizado sua RNI foi 6,490, o que possivelmente se deve ao fato de o participante já fazer uso prévio da varfarina. Após esta medição o mesmo permaneceu recebendo por dois dias consecutivos a dose de 2,5 mg de varfarina, o que resultou em RNI de 14,40 no terceiro dia, sendo a conduta do prescritor a suspensão do medicamento e administração de 30 mg de fitomenadiona por via oral para reversão dos efeitos da varfarina e redução da RNI. Após dois dias da suspensão da varfarina o participante retornou ao alvo.

Observando o ocorrido com estes dois participantes, entende-se que, com maior regularidade nos exames, seria possível realizar o manejo das doses para que o alvo fosse mantido, garantindo o sucesso e a segurança da terapia. Ainda, a observância dos valores da RNI e a pronta alteração na conduta médica poderiam prevenir os níveis supratrapêuticos alcançados.

A intensidade das atividades realizadas pelos prescritores em tempos de pandemia possivelmente os impediu de acompanhar os resultados de exames de forma frequente e alterar a conduta no mesmo dia. Apesar de haver um protocolo institucional que pauta a conduta dos ajustes de dose da varfarina em relação aos valores da RNI, sabe-se que existem várias abordagens na literatura sobre este manejo, com sugestões diversas de doses iniciais, tempo para realizar exames e de conduta para cada valor encontrado. Portanto, não é possível alegar que o manejo observado foi inadequado sem conhecer a motivação individual de cada prescritor para as condutas tomadas. Entretanto, a utilização de protocolo específico poderia direcionar a tomada de decisão no ajuste das doses e uniformizar condutas. Este fato foi observado em estudo que concluiu como mais adequada a utilização de doses iniciais de 5 mg de varfarina, com ajustes embasados nos resultados dos exames, o que levou a menores ocorrências de RNI elevada quando comparado com doses de 10 mg (HARRISON et al., 1997).

Neste aspecto, o papel do farmacêutico no acompanhamento destes participantes poderá ser de grande auxílio, particularmente nas situações supracitadas. Ao observar os exames laboratoriais

diariamente e acompanhar a prescrição o farmacêutico poderá intervir junto ao prescritor e colaborar para a decisão da melhor conduta para o paciente no tempo adequado, melhorando, desta forma, os desfechos no uso do anticoagulante oral. Tal fato foi observado em estudo que buscou determinar se o monitoramento da terapia com varfarina por um farmacêutico beneficiaria uma instituição de cuidados de longo prazo, mantendo os pacientes dentro da faixa terapêutica de RNI mais consistentemente. Os autores observaram que RNI de paciente acompanhado por farmacêuticos permaneceu dentro da faixa terapêutica por mais tempo do que acompanhados exclusivamente por médicos (58,7% vs 47,1 correlação de Pearson, $p < 0,05$) (MOTYCKA et al., 2012).

Estudos recentes demonstram que a varfarina está frequentemente envolvida em interações com outros medicamentos (HARSKAMP et al., 2019; OLSEN; SLETVOLD, 2018; PICCINI et al., 2016; FONTANA, 2013; CRUCIOL-SOUZA; THOMSON, 2006). De forma similar ao observado na literatura, neste estudo, observou-se que a varfarina apresentou potencial interação com ao menos um medicamento prescrito e, ao correlacionar o número de medicamentos com a ocorrência de potenciais interações medicamentosas, foi possível observar que, para os participantes que tinham menos de 7 medicamentos por prescrição, a média foi menor do que para o grupo de participantes que tinha 7 medicamentos ou mais por prescrição ($3 \pm 1,4$ vs $5,6 \pm 2,5$). Este fato demonstra que quanto maior o número de medicamentos prescritos, maior a possibilidade de ocorrer potenciais interações medicamentosas.

Estudo recente que avaliou interações medicamentosas em 801 pacientes com polifarmácia, definida como o uso simultâneo de cinco ou mais medicamentos, (MASNOON et al., 2017), também encontrou uma alta prevalência (81,8%) de potenciais interações com severidade moderada (NUSAIR et al., 2020), semelhante ao encontrado neste estudo (81,7%). Outro estudo encontrou 18,3% de potenciais interações de severidade maior (AL-QEREM et al., 2018), valor aproximado ao observado neste estudo (15%).

Dentre as interações observadas neste estudo que ocasionam potencialização da ação do anticoagulante, a sinvastatina foi o medicamento mais frequentemente prescrito. Dos 13 participantes, oito faziam uso concomitante de sinvastatina e varfarina. Estes medicamentos são comumente coadministrados a pacientes com doenças cardiovasculares. Shaik e colaboradores (2016) realizaram estudo que investigou a etiologia das interações medicamentosas entre o anticoagulante oral e o hipolipemiante por meio da verificação do deslocamento da ligação da varfarina da proteína plasmática e da inibição da metabolização da varfarina na presença de estatinas. O estudo demonstrou que a presença da sinvastatina foi capaz de deslocar a ligação da proteína plasmática da S-varfarina e que a inibição da CYP causa significativa interação entre estes medicamentos. Outros estudos observaram pequena alteração na RNI na presença de estatinas, portanto consideram a interação de limitada relevância clínica, mas concluem que, considerando a estreita faixa terapêutica da varfarina, o tratamento concomitante deve ser acompanhado por um monitoramento mais frequente (ENGELL et al., 2020; ANDERSSON; MANNHEIMER; LINDH, 2019).

Com a segunda posição na frequência de potencial interação medicamentosa com varfarina estão o ácido acetilsalicílico e a enoxaparina (ambas $n = 6$). O ácido acetilsalicílico e a varfarina podem ser utilizados em conjunto na prevenção de eventos cardiovasculares em casos selecionados e sua utilização requer acompanhamento cuidadoso (LORGA FILHO et al., 2013). O uso concomitante destes medicamentos é recomendado apenas em algumas situações, como síndrome coronariana aguda, em especial com intervenções coronárias percutâneas, e para alguns pacientes com válvulas

cardíacas mecânicas (NISHIMURA et al., 2017; O'GARA et al., 2013; YOU et al., 2012). A associação do anticoagulante com o ácido acetilsalicílico aumenta o risco de hemorragia, pois este último inibe a agregação plaquetária. Em estudo que avaliou o impacto da interação deste com a varfarina no tempo na faixa terapêutica (TTR) observou-se que os pacientes em uso de ácido acetilsalicílico tiveram TTR significativamente reduzidos em relação aos pacientes que não faziam uso deste, e ainda apresentaram um aumento associado de sangramentos (BOYCE et al., 2018).

Apesar de ser classificada como uma interação importante pelo aumento do risco de sangramentos, a prescrição da varfarina concomitante a enoxaparina é uma prática comum e recomendada por curtos períodos em protocolos clínicos para paciente hospitalizado quando do início ou retomada do tratamento com o anticoagulante oral. A heparina de baixo peso molecular é empregada nestes casos para garantir a anticoagulação adequada até que o alvo da RNI seja alcançado (SERRANO JÚNIOR et al., 2019). Os seis pacientes que tiveram prescrição concomitante receberam a enoxaparina por curto período, de forma que, ao atingir o objetivo de assegurar a anticoagulação, foi suspensa e retirada da prescrição.

Em relação aos medicamentos que inibem a ação anticoagulante da varfarina, o mais prevalente foi a espironolactona. Entretanto a classificação de risco B sugere que nenhuma ação é necessária. Foi encontrado apenas um estudo investigando esta interação em humanos, tendo atribuído esse efeito à diurese e à concentração de fatores de coagulação com consequente redução da ação anticoagulante (O'REILLY, 1980).

Pelo seu grande potencial de interações, fica evidente que a associação da varfarina com polifarmácia pode ocasionar grandes possibilidades de potenciais interações, sendo necessário um maior cuidado para evitar a ocorrência de reações adversas. A intervenção do farmacêutico clínico na avaliação da prescrição e no aprazamento dos medicamentos prescritos pode ser vantajosa para que tais interações e consequentes reações adversas não ocorram.

CONCLUSÕES

Foi possível identificar, por meio deste estudo, potenciais interferências na resposta à terapia anticoagulante oral que possivelmente contribuíram para a dificuldade no manejo, tal como a variabilidade da resposta individual ao tratamento, o difícil ajuste das doses frente aos resultados da RNI, bem como a presença de potenciais interações medicamentosas relevantes. O estudo aponta diversas oportunidades para a atuação do farmacêutico no cuidado ao paciente em uso de varfarina e contribuirá para o planejamento de ações e para a melhoria contínua da qualidade e segurança deste tratamento. A aplicação prática do protocolo desenvolvido como fruto deste estudo para o acompanhamento farmacoterapêutico de pacientes em uso de varfarina pautará os cuidados farmacêuticos que poderão contribuir para o sucesso e segurança do tratamento medicamentoso.

REFERÊNCIAS

AL-QEREM, W. et al. The prevalence of drug-drug interactions and polypharmacy among elderly patients in Jordan. **Biomedical Research**, v. 29, n. 12, p. 2561–2569, 2018.

- ANDERSSON, M. L.; MANNHEIMER, B.; LINDH, J. D. The effect of simvastatin on warfarin anticoagulation: a swedish register-based nationwide cohort study. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, n. 10, p. 1387–1392, 2019.
- ARMAHIZER, M. J. et al. Comparing drug-drug interaction severity ratings between bedside clinicians and proprietary databases. **ISRN Critical Care**, v. 2013, n. 347346, p. 1–6, 2013.
- BARBOSA, R. et al. Atenção farmacêutica a pacientes em uso de varfarina. **Saúde & Ciência Em Ação**, v. 4, n. 1, p. 47–70, 2018.
- BLIX, H. S. et al. Drugs with narrow therapeutic index as indicators in the risk management of hospitalised patients. **Pharmacy Practice**, v. 8, n. 1, p. 50–55, 2010.
- BORGO, F. L.; SANCHES, D. C. N.; KIHARA, D. C. Predição do risco futuro de tromboembolismo venoso em idosos no ambulatório. **Revista Geriatria & Gerontologia**, v. 7, n. 4, p. 274–278, 2013.
- BOYCE, M. L. et al. Impact of aspirin on warfarin control as measured by time in therapeutic range. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 123, n. 4, p. 504–508, 2018.
- CAO, C. et al. In Potential stroke patients on warfarin, the international normalized ratio predicts ischemia. **Cerebrovascular Diseases Extra**, v. 7, n. 2, p. 111–119, 2017.
- COLET, C. F.; AMADOR, T. A.; HEINECK, I. Acompanhamento farmacoterapêutico de pacientes em uso de varfarina: uma revisão da literatura. **Revista Contexto & Saúde**, v. 1732, n. 32, p. 134–143, 2017.
- CROWTHER, M. A. et al. A randomized trial comparing 5-mg and 10-mg warfarin loading doses. **Archives of Internal Medicine**, v. 159, n. 1, p. 46–48, 1999.
- CRUCIOL-SOUZA, J. M.; THOMSON, J. C. Prevalence of potential drug-drug interactions and its associated factors in a Brazilian teaching hospital. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 3, p. 427–433, 2006.
- DAHAL, K. et al. Stroke, major bleeding, and mortality outcomes in warfarin users with atrial fibrillation and chronic kidney disease: a meta-analysis of observational studies. **Chest**, v. 149, n. 4, p. 951–959, 2016.
- ENGELL, A. E. et al. Drug-drug interaction between warfarin and statins: a danish cohort study. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 87, n. 2, p. 694–699, 2020.
- FONTANA, V. B. **Estudo da frequência de interação medicamentosa em prescrições médicas contendo medicamentos de baixo índice terapêutico**. 2013, 46 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia), Universidade do Vale do Taquari, Lajeado, RS, 2013.
- GOMES, T. et al. Rates of hemorrhage during warfarin therapy for atrial fibrillation. **Cmaj**, v. 185, n. 2, p. 121–127, 2013.
- GUIDONI, C. M. **Estudo de utilização da varfarina em pacientes hospitalizados: análise do risco de interações medicamentosas e reações adversas**. 2012. 102 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.
- HARRISON, L. et al. Comparison of 5-mg and 10-mg loading doses in initiation of warfarin therapy. **Annals of Internal Medicine**, v. 126, n. 2, p. 133–136, 1997.

- HARSKAMP, R. E. et al. Impact of Polypharmacy and P-Glycoprotein- and CYP3A4-Modulating Drugs on Safety and Efficacy of Oral Anticoagulation Therapy in Patients with Atrial Fibrillation. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 33, n. 5, p. 615–623, 2019.
- HENEGHAN, C. et al. Optimal loading dose for the initiation of warfarin: a systematic review. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 10, n. 18, p. 1–12, 2010.
- HINDRICKS, G. et al. ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). **European Heart Journal**, v. 42, n. 5, p. 373–498, 2021.
- HYLEK, E. M. et al. Major hemorrhage and tolerability of warfarin in the first year of therapy among elderly patients with atrial fibrillation. **Circulation**, v. 115, n. 21, p. 2689–2696, 2007.
- JOHNSON, J. A. et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and warfarin dosing. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 90, n. 4, p. 625–629, 2011.
- KEELING, D. M. et al. Guidelines on oral anticoagulation with warfarin - fourth edition. **British Journal of Haematology**, v. 154, n. 3, p. 311–324, 2011.
- KITAHARA, S. T. et al. Avaliação da variação de razão normalizada internacional em pacientes anticoagulados através de metodologia diferenciada. **Revista Brasileira de Cardiologia**, v. 27, n. 5, p. 342–348, 2014.
- KOVACS, M. J. et al. Comparison of 10mg and 5mg warfarin initiation nomograms together with low-molecular-weight heparin for outpatient treatment of acute venous thromboembolism. **Annals of Internal Medicine**, v. 138, n. 9, p. 714–719, 2003.
- LASTÓRIA, S. et al. Comparação da dose inicial de 5 mg ou 10 mg para o início da terapia com varfarina. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 13, n. 1, p. 12–17, 2014.
- LONG, A. L. et al. Characteristics of ambulatory anticoagulant adverse drug events: A descriptive study. **Thrombosis Journal**, v. 8, n. 5, p. 9–13, 2010.
- LORGA FILHO, A. M. et al. Diretrizes Brasileiras de Antiagregantes Plaquetários e Anticoagulantes em Cardiologia. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 101, n. 3 Suppl 3, p. 1–95, 2013.
- MAHTANI, K. R. et al. Optimal loading dose of warfarin for the initiation of oral anticoagulation (Review). **The Cochrane Library**, n. 12, p. 1–44, 2012.
- MASNOON, N. et al. What is polypharmacy? A systematic review of definitions. **BMC Geriatrics**, v. 17, n. 1, p. 1–10, 2017.
- MOHEBBI, A.; HONARVAR, M.; BEHZADI, A. Time Trend in outpatient warfarin therapy based on international normalization ratio. **Iranian Heart Journal**, v. 9, n. 3, p. 37–41, 2008.
- MOTYCKA, C. et al. Potential benefits of warfarin monitoring by a clinical pharmacist in a long term care facility. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 33, n. 2, p. 173–177, 2012.
- NISHIMURA, R. A. et al. AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on clinical practice guidelines. **Circulation**, v. 135, n. 25, p. 1159–1195, 2017.

- NUSAIR, M. B. et al. The prevalence and severity of potential drug-drug interactions among adult polypharmacy patients at outpatient clinics in Jordan. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 28, n. 2, p. 155–160, 2020.
- O'GARA, P. T. et al. ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. **Circulation**, v. 127, n. 4, p. 362–425, 2013.
- O'REILLY, R. A. Spironolactone and warfarin interaction. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 198–201, 1980.
- OLSEN, R. M.; SLETVOLD, H. Potential drug-to-drug interactions: a cross-sectional study among older patients discharged from hospital to home care. **Safety in Health**, v. 4, n. 1, p. 1–8, 2018.
- PICCINI, J. P. et al. Polypharmacy and the efficacy and safety of rivaroxaban versus warfarin in the prevention of stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation. **Circulation**, v. 133, n. 4, p. 352–360, 2016.
- PIVATTO JÚNIOR, F. et al. SAME-TT2R2 score in the outpatient anticoagulation clinic to predict time in therapeutic range and adverse events. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 108, n. 4, p. 290–296, 2017.
- POTPARA, T. S.; FERRO, C. J.; LIP, G. Y. H. Use of oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation and renal dysfunction. **Nature Reviews Nephrology**, v. 14, n. 5, p. 337–351, 2018.
- QUIROZ, R. et al. Comparison of a Single end point to determine optimal initial warfarin dosing (5 mg versus 10 mg) for venous thromboembolism. **American Journal of Cardiology**, v. 98, n. 4, p. 535–537, 2006.
- RIKALA, M. et al. Natural history of bleeding and characteristics of early bleeders among warfarin initiators – a cohort study in Finland. **Clinical Epidemiology**, v. 8, p. 23–33, 2016.
- RUFF, C. T. Pharmacogenetics of warfarin therapy. **Clinical Chemistry**, v. 64, n. 11, p. 1558–1559, 2018.
- SCHNABEL, R. B. et al. 50 year trends in atrial fibrillation prevalence, incidence, risk factors, and mortality in the Framingham Heart Study: a cohort study. **The Lancet**, v. 386, n. 9989, p. 154–162, 2015.
- SERRANO JÚNIOR, C. V. et al. Posicionamento sobre antiagregantes plaquetários e anticoagulantes em cardiologia – 2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, n. 1, p. 111–134, 2019.
- SHAIK, A. N. et al. Mechanism of Drug-Drug Interactions between Warfarin and Statins. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 6, p. 1976–1986, 2016.
- YACOBI, A. et al. Who needs individual bioequivalence studies for narrow therapeutic index drugs? A case for warfarin. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 40, n. 8, p. 826–835, 2000.
- YOU, J. J. et al. Antithrombotic therapy for atrial fibrillation: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. **Chest**, v. 141, n. 2 SUPPL., p. e531S–e575S, 2012.
- ZHENG, Y. et al. Novel oral anticoagulants for the prevention of stroke in patients with atrial fibrillation and hypertension: a meta-analysis. **American Journal of Cardiovascular Drugs**, v. 19, n. 5, p. 477–485, 2019.

A RADIAÇÃO IONIZANTE COMO TECNOLOGIA PARA A INATIVAÇÃO DE VÍRUS

IONIZING RADIATION AS A TECHNOLOGY FOR VIRUS INACTIVATION

Márcio Martins de Araujo^{1*}; Daili A. S. Barreira¹; Susyleide Gomes de Brito¹; Paulo de Souza Santos¹; Sueli Ivone Borrelly¹; Pablo Vasquez¹

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/USP, São Paulo, Brasil

*Autor correspondente: Centro de Biotecnologia - Avenida Lineu Prestes, 2242 - Cidade Universitária, São Paulo, SP, CEP 05508-000 /Celular: (11) 979890490
e-mail: marcio_araujo@usp.br

RESUMO

Encontrar meios acessíveis e eficientes para inativação de patógenos, e, assim diminuir as consequências maléficas destes para a população, é uma questão que desafia os gestores públicos e a comunidade científica. Diante disso, nosso objetivo foi realizar uma revisão narrativa sobre o histórico do uso da radiação ionizante como tecnologia para inativação viral. Para isso, foram utilizados artigos disponíveis no Google Acadêmico, Scielo, PubMed e Periódicos da CAPES totalizando 35 artigos entre os anos de 1971 e 2022. A radiação ionizante é um método físico que destrói os ácidos nucleicos e inibi a replicação viral, mantendo sua imunogenicidade, sem requerer todas as etapas necessárias para desintoxicar as culturas provenientes de processos químicos, o que facilita o manuseio de antígenos em laboratório de segurança nível 2. Observamos que doses distintas para cada vírus dependente de condições relacionadas ao preparo da amostra, temperatura, umidade, falta de oxigênio, taxa da dose e penetração (estado físico do material); e também ao próprio vírus, como por exemplo o tamanho genômico. A radiorresistência presente nos vírus e esporos bacterianos também foi um fator relevante observado na literatura quanto a esterilização de materiais hospitalares por afetar algumas estruturas poliméricas do polipropileno em máscaras descartáveis, cuja a solução adotada foi a utilização da radiação não ionizante dependente do tempo, a ultra-violeta (UV – C). Portanto, apesar de ser um método mais custoso, a praticidade do processo que é contínuo, sem residual e a segurança promovida pela não lisura da embalagem, permite a competitividade da radiação ionizante frente aos métodos existentes tanto na esterilização de insumos quanto para produção de vacinas através da inativação viral.

Palavras-chave: Dose de Radiação; Esterilização; Microrganismos; Vírus.

ABSTRACT

Finding available and efficient means of inactivating pathogens and thus reducing their harmful consequences for the population is a question that challenges public managers and the scientific community. Therefore, our objective was to perform a narrative review on the history of the use of ionizing radiation as a technology for viral inactivation. We used articles from Google Scholar, Scielo, PubMed, and CAPES journals, totaling 34 articles between 1971 and 2022. Ionizing radiation is a physical method that will destroy nucleic acids and inhibit viral replication while maintaining its immunogenicity without requiring all the steps necessary to detoxify the cultures from chemical processes, which facilitates the handling of antigens in a level 2 safety laboratory. We observed different doses for each virus depending on conditions related to sample preparation, temperature,

humidity, lack of oxygen, dose rate and penetration (physical state of the material), and, the virus itself, such as genomic size. The radioresistance found in viruses and bacterial spores was also relevant factor in the literature. Regarding the sterilization of hospital materials by affecting some polymeric structures of polypropylene in disposable masks, whose solution adopted was the use of non-ionizing time-dependent radiation, the ultraviolet (UV - C). Therefore, despite being a more costly method, the practicality of the process, which is continuous, without residuals, and the safety promoted by the non-smooth packaging, allow the competitiveness of ionizing radiation against existing methods both in the sterilization of supplies and in the production of vaccines through viral inactivation.

Keywords: Radiation Dose; Sterilization; Microorganisms; Virus.

INTRODUÇÃO

Os benefícios do processamento por radiação ionizante ou irradiação estão presentes na esterilização de produtos médicos descartáveis, próteses, cosméticos, meios de cultura, bancos de tecidos biológicos, vacinas, produtos alimentícios e desinfestação de obras de arte. A exposição de materiais à radiação ionizante pode provocar a indução de radioatividade, a qual pode ocorrer se a energia de radiação incidente ultrapassar 12 MeV, portanto, o uso de energias de radiação acima de 10 MeV é proibido para esterilização. Na prática, somente raios gama produzidos pelo cobalto 60, os quais possuem níveis energéticos entre 1,17 MeV e 1,33 MeV, e feixes de elétrons acelerados com energias entre 8 MeV e 10 MeV são usados ⁽¹⁾. O poder de penetração do feixe de elétrons é menor do que os raios gama provindos do 60-Co, por exemplo, para um material com densidade de 1g/cm³ (semelhante à da água) o poder de penetração de um feixe de elétrons com energia de 10 MeV é de 5cm, enquanto que os raios gama com energia média de 1,25 MeV é de cerca de 50cm ⁽²⁾. Uma vantagem importante do processamento de materiais por radiação ionizante é a possibilidade de esterilizar os itens em suas próprias embalagens, submetendo a uma quantidade controlada de radiação, denominada dose absorvida, por um tempo pré-fixado e com objetivos bem determinados. O processo de irradiação é influenciado pela temperatura, umidade e tensão de oxigênio do meio, assim como pelo estado físico do material a ser irradiado. Assim, cada produto a ser irradiado deve ser estudado e devem ser estabelecidos procedimentos específicos, relacionados principalmente às doses de radiação ⁽³⁾. Geralmente, nos irradiadores gama podem ser tratados objetos com diversas geometrias e tamanhos enquanto nos aceleradores de elétrons precisa-se de geometrias e densidade preestabelecidas.

O processo para a determinação da dose de esterilização de um determinado produto deve estabelecer a dose mínima necessária para atingir o nível de garantia de esterilidade (SAL) definido previamente. Segundo a norma ISO 11137, a dose necessária para a redução da carga microbiana depende da contaminação microbiana inicial (UFC, bioburden, etc.) e esta deverá ser ajustada para cada situação. Quando uma população de microrganismos é exposta a uma dose de radiação, a fração de sobrevivência destes é inversamente proporcional à dose absorvida pelo material irradiado ⁽⁴⁾. Quando o SAL é definido no nível de 10⁻⁶, significa que a probabilidade de entrar contaminação microbiológica é de um em milhão e comumente se aplica a insumos médicos e hospitalares. Para diferentes espécies de microrganismos são estabelecidos valores de D₁₀, que representa a dose de

radiação necessária para inativar 90% da população, ou seja, é a dose de radiação necessária para reduzir a população microbiana a um décimo do seu número inicial ⁽⁵⁾.

Para maioria dos microrganismos, a sensibilidade à radiação (radiossensibilidade) é inversamente proporcional ao tamanho e complexidade da célula/organismo. Os vírus têm genomas relativamente pequenos, resultando em sua maior resistência à irradiação. Em geral, os vírus são menos suscetíveis à radiação, necessitando doses mais elevadas ⁽⁶⁾.

Sullivan *et al.* submeteram 30 tipos de vírus ao processo com radiação ionizante e conseguiram 90% de inativação nas amostras com doses que variam de 3,9 a 5,3 kGy ⁽⁷⁾. O desenvolvimento de vacinas experimentais, contra várias doenças virais, utilizando radiação ionizante datam da década de 1970. Todavia, a maior disponibilidade de irradiadores, bem como a necessidade de controle de contaminações vem levando a importantes avanços e múltiplas aplicações da tecnologia das radiações.

Os estudos que envolvem vírus e microrganismos com elevado potencial de transmissão de doenças (patogênicos) exigem cuidados essenciais em termos de segurança ao trabalhador e ao público, devendo ser cumpridos os critérios de biossegurança. Assim, as atividades laboratoriais de pesquisa e produção que utilizam material biológico exigem Níveis de Biossegurança (BSL) designados em ordem crescente, segundo o grau de proteção, e de acordo com as exigências apresentadas no Quadro 1 ⁽⁸⁾.

Quadro 1 - Requisitos para os níveis de biossegurança em laboratórios (Biosafety level)

Nível de biossegurança	Tipo de laboratório	Exigências
Básico – BSL 1	Laboratórios básicos de ensino e pesquisa.	Uso de jalecos, luvas e óculos protetores quando necessário, deve possuir mesa/bancada de trabalho.
Básico – BSL 2	Laboratórios clínicos; laboratórios de serviços de diagnósticos e pesquisa.	Sinalização de perigo biológico, bancada de trabalho e câmaras de segurança para aerossóis potenciais.
Contenção – BSL 3	Laboratórios de diagnóstico e pesquisas especiais.	Roupa especial, acesso controlado, ventilação dirigida e câmaras de segurança biológica.
Contenção máxima – BSL 4	Unidades de agentes patogênicos perigosos.	Entrada hermética, saída com ducha para eliminação especial de resíduos, câmara de segurança de pressão positiva, autoclave, duas portas (através da parede) e ar filtrado.

Adaptado de OMS (2004).

Essa técnica de inativação é realizada fora da contenção laboratorial, contudo a adição de um composto de amônio quaternário ao redor das amostras durante o transporte fornece segurança sem alterar a dose necessária para atingir o SAL ⁽⁹⁾.

Dessa maneira o presente trabalho teve como objetivo analisar o histórico do uso da radiação ionizante para inativação de vírus. Trata-se de um estudo de revisão narrativa da literatura, na qual se realizou uma consulta nas bases de dados do Google Acadêmico, Scielo, PubMed e Periódicos CAPES, nos idiomas inglês e português, abrangendo artigos publicados de 1971 a 2022 dos quais os descritores utilizados foram: inativação viral, radiação ionizante e esterilização. Os 34 artigos selecionados consideravam os efeitos químicos, físicos e estruturais ocasionados pela radiação.

INATIVAÇÃO DE VÍRUS POR RADIAÇÃO IONIZANTE

Na Tabela 1 são apresentados os principais resultados dos trabalhos de Nims *et al.*; Hewitt *et al.* e Abolaban e Djouider, onde constam os dados de algumas famílias de vírus quanto à eficácia da

radiação gama a partir de estudos de dose/resposta à inativação viral utilizando como referência os valores de $D_{10}^{(10,5,11)}$.

Tabela 1 - Eficácia da irradiação gama a partir de estudos de dose/resposta à inativação viral

Vírus	Família	Morfologia	Envelope	Tamanho (nm)	Genoma (kb)	Estrutura (Fita do DNA)	D10 (kGy)	Redução Log 10 (kGy)
IBR	Herpesviridae	Esférico	sim	100-120	120-230	DNA – dupla	3,22	0,310
APV	Poxviridae	Oval	sim	240-300	130-260	DNA – dupla	2,20	0,456
PI3	Paramyxoviridae	Esférico	sim	100-200	13-19	RNA -simples	4,78	0,209
CAV	Adenovirus	Icosaédrico	não	70-90	7-30	DNA – dupla	4,92	0,203
REO	Reovirus	Icosaédrico	não	60-80	4-27	RNA – dupla	5,15	0,194
BVDV	Flaviviridae	Icosaédrico	sim	50-70	9-13	RNA – simples	5,05	0,198
SARS-CoV 2	Coronaviridae	Esférico	sim	20-25	26-32	RNA -simples	1,60	0,625
BEFV	Rhabdoviridae	Hemielipsoide	sim	75x150	10-16	RNA – simples	2,94	0,340
Akabane	Bunyaviridae	Esférico	sim	80-120	11-23	RNA – simples	2,50	0,400
Aino	Bunyaviridae	Esférico	sim	80-120	11-23	RNA – simples	3,45	0,290
PPV	Parvovirus	Icosaédrico	não	18-24	3-6	DNA – simples	18,18	0,055

IBR (Rinotraqueíte infecciosa - bovina); APV (Avipoxivirus); CAV (hepatite infecciosa - canina); PI3 (Parainfluenza - bovina-3); BVDV (Diarreia viral - bovina); BEFV (vírus da febre efêmera, em bovinos).

A função de uma vacina é ativar uma resposta imunológica no organismo, reação antígeno-anti-corpo. As vacinas com vírus inativados podem ser produzidas a partir da inativação do microrganismo por calor, empregando produtos químicos ou por radiação. Com relação ao uso da radiação ionizante para a produção de vacinas, alguns estudos merecem destaque. Ao avaliarem processos distintos para a inativação do vírus da raiva, Wiktor *et al.* obtiveram elevada eficiência com a radiação gama, valor antigênico de 92% em relação aos agentes químicos β -propiolactona e acetilenoimina⁽¹²⁾. A fim de obter uma vacina geneticamente modificada com o vírus do HIV-1, Kang e Gao, empregaram método misto para inativação viral, com aldritiol-2 (química) e com radiação gama (física) e com uma dose de 30kGy⁽¹³⁾. Em ensaios clínicos o produto foi capaz de estimular a produção de anticorpos, resultado promissor para uma vacina profilática segura. Outros autores com pesquisas relacionadas aos vírus: Influenza A⁽¹⁴⁾, Poliomielite⁽¹⁵⁾, SARS-CoV-2⁽¹⁶⁾.

A praticidade da técnica e a eliminação de processos posteriores para desintoxicar as culturas de vírus, faz com que a radiação seja um método físico de inativação viável e que preserva os antígenos

virais para desencadear a imunogenicidade enquanto destrói os ácidos nucleicos para inibir a replicação viral em células humanas⁽¹⁷⁾.

As doses de radiação indicadas para reduzir a carga viral de HIV-1 em 1 log₁₀ (valor D₁₀) variaram de 4 kGy a 5,6 kGy. Pruss *et al.* irradiaram amostras a -30°C e determinaram os valores para D₁₀ de 7,1 kGy e 7,3 kGy para o HIV-2 e para o parvovírus bovino⁽¹⁸⁾. A exemplo de Seo e colaboradores, que revisou 158 estudos para propor a tecnologia das radiações na produção de vacinas⁽¹⁹⁾.

O genoma viral é protegido por um envelope externo adicional. Ao contrário das bactérias, os vírus não possuem organelas celulares e, portanto, não têm atividades metabólicas para sua replicação, dependendo das funções celulares do seu hospedeiro^(11,20).

Desse modo, a escolha de um método de inativação preservando a integridade do epítipo viral é importante, uma vez que o dano da proteína do envelope diminuirá a eficácia da vacina⁽²¹⁾. Delrue *et al.* constataram que alguns processos químicos envolvidos na inativação viral por formaldeído, peróxido de hidrogênio ou derivados binários de etilenimina não são seletivos e podem danificar a proteína do envelope, levando a uma resposta imunológica deficiente⁽²²⁾.

Tobin *et al.* utilizando um complexo antioxidante de decaptídeo de manganês, derivado da bactéria radiorresistente *Deinococcus radiodurans*, observaram que na dose de 45kGy houve proteção das proteínas do capsídeo viral do dano oxidativo induzido pela radiação exceto o RNA genômico viral em Picornavírus, demonstrando completa inativação do vírus da Poliomielite. Em contraste, a degradação completa dos epítipos de superfície foi constatada de maneira dependente da dose⁽¹⁵⁾. Boudarkov *et al.* buscaram inativar o vírus da peste suína africana, composto por uma dupla fita de DNA e pertencente à família Asfaviridae, empregando a radiação gama. Em seus resultados, as doses de 20 a 30kGy foram eficazes na obtenção de soros hiperimunes capazes de serem empregados eficientemente em distintas aplicações⁽²³⁾.

O uso de doses de radiação adequadas deve garantir o emprego seguro da tecnologia das radiações para a produção de vacinas. A preservação da integridade conformacional das proteínas virais é um fator crítico para manter a imunogenicidade e preparação da vacina. Por essas razões, nenhuma vacina inativada por irradiação para vírus patogênicos foi ainda aprovada para uso humano, apenas em ensaios clínicos de fase III^(24,19). É possível atenuar os efeitos da radiação num determinado material biológico, realizando o processo de irradiação a temperaturas baixas (0C, -70C, etc.).

As principais lesões induzidas por radiação ionizante em ácidos nucleicos intracelulares são: danos químicos, conferidos às bases purina e pirimidina e ao açúcar desoxirribose; e um dano físico-químico resultando em quebra de fita simples ou dupla. Os vírus de fita simples são mais sensíveis à irradiação do que os vírus de fita dupla, apesar de seu genoma menor e mais simples. Os vírus de fita simples são homogêneos em relação à sua radiosensibilidade e a inativação não provoca um dano cumulativo. Embora a quebra da fita seja uma causa importante de inativação para vírus de fita simples, a combinação de dano à base e formação de reticulação intrafita é mais relevante⁽⁵⁾.

O mecanismo de inativação de um vírus por radiação gama obedece aos princípios básicos dos efeitos biológicos das radiações, isto é, mediante uma ação direta e uma ação indireta. A ação direta das radiações ionizantes na inativação viral é causada pela quebra da cadeia de uma biomolécula (clivagem radiolítica) e em menor grau as proteínas e envelopes virais. Os efeitos indiretos da radiação ionizante são atribuídos ao processo de radiólise, devido à obtenção de espécies químicas difusíveis

e reativas (radicais livres do tipo hidroxila e compostos do oxigênio) que potencializam os danos e reagem com os ácidos nucleicos virais além das proteínas ^(25, 9).

Feldmann *et al.* mostraram que a inativação foi inversamente correlacionada com o tamanho do genoma. Eles determinaram as doses de radiação necessárias para uma redução de 6 log₁₀ com a adição de um fator de segurança de 2 e encontraram que 20 kGy são necessários para inativar o coronavírus, SARS-CoV (tamanho do genoma 29 quilobase – kb), 40 kGy para o filovírus (19 kb), 80 kGy para o arenavírus, bunyavírus, ortomixovírus e paramixovírus (13 kb) e 100 kGy para o flavivírus (9 kb) ⁽²¹⁾. Em 2016, Hume e colaboradores estudaram três vírus com RNA de fita simples e com envelope de tamanhos semelhantes, o morbilivírus (90-150 nm), bunyavírus (90-120 nm) e o rabdovírus (70-150 nm), obtendo valores de D₁₀ de 2,53; 2,61 e 2,71 kGy, respectivamente. Obtiveram-se resultados similares quando o material foi irradiado sob o mesmo protocolo experimental ⁽⁹⁾.

Existe a possibilidade de reparo do RNA de um vírus por diferentes mecanismos, podendo conferir certa radiorresistência ao microrganismo ⁽²⁶⁾. Por outro lado, para Nims *et al.* o tamanho do vírus é importante na sua sensibilidade frente as radiações, e independe da presença ou ausência de envelope na estrutura do vírus ⁽¹⁰⁾. Assim como Schmidt *et al.* que ao investigar a inativação de vírus envelopados (HIV-2 e PRV- pseudorraiva) e não envelopados (HAV – hepatovírus e PPV – parvovírus suíno) por meio de esterilização por feixe de elétron através de dose única e fracionada (10 ciclos), não encontraram diferenças significativas entre ambos os processos alcançando uma redução de título de 4 log₁₀ suficiente para todos os vírus investigados a uma dose de 34kGy, sendo a fracionada (3,4kGy) considerando o vírus mais resistente como por exemplo o HIV-2 ⁽²⁷⁾. Abolaban e Djouider destacaram a importância de critérios na discussão sobre a amplitude de doses de radiação citadas por diferentes autores, considerando os diferentes protocolos seguidos durante os estudos ⁽¹¹⁾.

O impacto mundial da pandemia da Covid-19 impulsionou o desenvolvimento de vacinas. Leung *et al.* cultivaram SARS-CoV-2 em células Vero na presença de 1% de soro fetal bovino e 1% de L-glutamina. Com a fração de sobrenadantes, contendo vírus, foram titulados após irradiação. Assim o estudo pode sugerir 1,6 kGy como o valor de D₁₀, com dose de inativação de 10kGy ⁽¹⁶⁾.

A colaboração científica entre os Institutos de Pesquisas Energéticas e Nucleares e o Instituto Butantan permitiu o desenvolvimento do soro anti-Covid. Devido aos riscos de contaminação e o potencial de patogenicidade, os estudos com o vírus ativo precisam ser feitos em laboratórios de nível de biossegurança 3 (BSL 3). Existem poucos laboratórios dessa classe para pesquisa no país, limitando as possibilidades de pesquisa, no entanto quando inertes podem ser manuseados em BLS-2 que são mais disponíveis. O vírus é inativado por radiação e inoculado em cavalos, que têm uma capacidade de produção de anticorpos 50 vezes maior que os seres humanos, após isso, ocorre a retirada do plasma sanguíneo do animal, repleto dessas proteínas, que passa por um processo de purificação e obtenção dos anticorpos. Sendo assim, um tratamento voltado para pessoas já infectadas, diferente do foco preventivo que é promovido pelas vacinas ⁽²⁸⁾.

Ensaios pré-clínicos *in vitro* realizados por Botosso *et al.* com a imunoglobulina equina anti-SARS-CoV-2 F(ab')₂ para o tratamento de Covid-19 usando um antígeno viral SARS-CoV-2, purificado e inativado por radiação gama na dose de 15kGy, foi capaz de neutralizar o vírus e em tecido pulmonar animal este soro promoveu a redução na gravidade da doença, segundo os autores a próxima etapa do estudo irá englobar os ensaios clínicos fase I/II ⁽²⁹⁾.

ESTERILIZAÇÃO DE EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INTERNA - EPIS

Atualmente são utilizados diversos métodos de esterilização: vapor (autoclave) dependente da temperatura, óxido de etileno (EtO) que emite poluentes ao meio ambiente e a radiação ionizante que apresenta algumas vantagens, mas que deve ter compatibilidade com os materiais tratados (termoplásticos, borrachas, têxteis, metais, pigmentos, vidros, adesivos e tintas) ⁽³⁰⁾.

Quase cinquenta por cento dos produtos de saúde, como luvas, seringas e roupas de proteção descartáveis são esterilizados por raios gama, feixes de elétrons ou raios X antes de seu uso. Contudo, pesquisas realizadas no Brasil, França, Israel, República da Coreia, Polônia e Estados Unidos mostraram que materiais filtrantes que possuem propriedades eletrostáticas perdem as suas propriedades filtrantes com doses superiores a 24 kGy como é o caso de muitas máscaras respiratórias do tipo N95 e FFP2 ⁽³¹⁾.

A maior parte destes insumos descartáveis é feita de tecido – não tecido (TNT) a base de polipropileno. Na situação atual da pandemia e pela iminente falta dos EPIS, foram realizados estudos com doses de radiação de até 50 kGy visando inicialmente manutenção das propriedades filtrantes e a reutilização destes ⁽³¹⁾. Keene *et al.* estudaram a degradação do TNT com a radiação gama e constaram a partir de 20kGy, sendo um resultado importante quando o objetivo é a reciclagem destes resíduos, uma vez que a sua decomposição em condições normais dura aproximadamente 100 anos ⁽³²⁾.

As máscaras cirúrgicas usadas em ambientes hospitalares apresentam grande quantidade de patógenos, principalmente bactérias e fungos oriundos da circulação do ar interno ⁽³³⁾. Além da radiação ionizante, uma outra alternativa para reuso tem sido verificada em estudos recentes com a radiação ultravioleta (UV-C) com comprimento de onda de 280 a 315nm, denominado de intervalo germicida que provoca a formação de dímeros de timina no DNA, os quais tem efeito letal sobre o microrganismo ⁽⁴⁾. A principal limitação desta técnica é que este tipo de radiação não é penetrante sendo necessário um método químico complementar como é o uso de peróxido de oxigênio.

Gerchman *et al.* estudaram os diferentes comprimentos de onda para inativar o Coronavírus humano (HCoV-OC43) e obtiveram maior eficácia nos intervalos de 267 e 279nm (inativação de 3log na irradiação 6-7 mJ/cm²), enquanto comprimentos de onda mais longos de 286 e 297nm exigiram doses mais altas para inativação, sendo 13 mJ / cm² e 32 mJ / cm², respectivamente ⁽³⁴⁾.

No Brasil a Escola Politécnica (Poli) da USP em parceria com a Plataforma Científica Pasteur submeteram as máscaras cirúrgicas de algodão e N95 contaminadas com o vírus SARS-CoV-2 à radiação UV-C em três condições: 15 minutos (0,453 J/cm²), 30 minutos (0,905 J/cm²) e 45 minutos (1,358 J/cm²). A avaliação através da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), para detecção de cópias de RNA viral, e por unidades formadoras de placa (UFP), mostrou que 15min foram o suficiente para inativação do vírus nos tecidos, mas, nos elásticos, o tempo necessário foi de 45 minutos ⁽³⁵⁾. Portanto, deve se considerar as diferenças de porosidade de cada material para a completa inativação do vírus.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta revisão mostrou que a radiação ionizante é um método de esterilização altamente eficiente na inativação de microrganismos, pois destrói a infecciosidade enquanto retém a atividade antigênica e imunogênica. Não aumenta a temperatura, não deixa resíduos, não produz gases poluentes nem gera produtos radioativos, possui boa penetrabilidade diante de produtos envasado e embalados,

eliminando os riscos de contaminação. Nessa técnica, observa-se que a dose de radiação necessária de inativação é inversamente proporcional ao tamanho do genoma viral. Assim, todos os resultados promissores dos estudos analisados fornecem uma base para o desenvolvimento de vacinas e soros antivirais com potencial de reduzir a morbidade e mortalidade em futuras pandemias. Apesar da sua compatibilidade com diversos tipos de insumos médicos, as altas doses para inativação viral pode comprometer a estrutura do material, por outro lado pode contribuir com o descarte na redução do tempo de decomposição e conseqüentemente minimiza o impacto ambiental. Para o caso SARS-CoV-2 ao D_{10} encontrado está ao redor de 2 kGy.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Martinho Junior AC. Estudo dos efeitos físicos, químicos e estruturais ocasionados pela radiação ionizante e preservação em cartilagem costal humana. 2008. 170f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo; 2008.
2. Calvo WAP. Desenvolvimento do sistema de irradiação em um irradiador multipropósito de cobalto-60 tipo compacto. 2005. 178f. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo; 2005.
3. Andreucci R. Radiologia Industrial. São Paulo: ABENDE; 2014. p. 130.
4. Da Silva RC, Da Silva RM, Aquino KAS. A interação da radiação gama com a matéria no processo de esterilização. *Revista Virtual de Química*. 2014; 6 (6):1624-1641. Doi: 10.5935/1984-6835.20140105.
5. Hewitt P, Leelawardana S. Gamma irradiation as a treatment to address pathogens of animal biosecurity concern. In: CC By 3.0. Canberra: Commonwealth of Australia; 2014. p.113.
6. Farkas J. Physical methods of food preservation. In: *Food microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Third Edition. American Society of Microbiology; 2007. 685-712.
7. Sullivan R, Fassolitis AC, Larkin EP, Read Junior RB, Peeler JT. Inactivation of thirty viruses by gamma radiation. *Applied Microbiology*. 1971; 22 (1): 61-65. Doi: 10.1128/am.22.1.61-65.1971.
8. OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Manual de segurança biológica em laboratório. 3ª edição; 2004. p. 215.
9. Hume AJ, Ames J, Rennick LJ, Duprex WP, Marzi A, Tonkiss J, et al. Inactivation of RNA viruses by gamma irradiation: a study on mitigating factors. *Viruses*. 2016; 8 (7): 1-11. Doi: 10.3390/v8070204.
10. Nims RW, Gauvin GG, Plavsic M. Gamma irradiation of animal sera for inactivation of viruses and mollicutes—a review. *Biologicals*. 2011; 39 (6): 370-377. Doi: 10.1016/j.biologicals.2011.05.003.
11. Abolaban FA, Djouider FM. Gamma irradiation-mediated inactivation of enveloped viruses with conservation of genome integrity: Potential application for SARS-CoV-2 inactivated vaccine development. *Open Life Sciences*. 2021; 16 (1): 558-570. Doi: 10.1515/biol-2021-0051.
12. Wiktor TJ, Aaslestad HG, Kaplan MM. Immunogenicity of rabies virus inactivated by β -propiolactone, acetyleneimine, and ionizing irradiation. *Applied Microbiology*. 1972; 23 (5): 914-918. Doi: 10.1128/am.23.5.914-918.1972.
13. Kang, CY, Gao Y. Killed whole-HIV vaccine; employing a well established strategy for antiviral vaccines. *AIDS research and therapy*. 2017; 14 (1): 1-4. Doi: 10.1186/s12981-017-0176-5.

14. Mullbacher A, Ada GL, Tha Hla R. Gamma-irradiated influenza A virus can prime for a cross-reactive and cross-protective immune response against influenza A viruses. *Immunology and Cell Biology*. 1988; 66 (2): 153-157. Doi: 10.1038/icb.1988.19.
15. Tobin GJ, Tobin JK, Gaidamokova EK, Wiggins TJ, Bushnell RV, Lee W, et al. A novel gamma radiation-inactivated sabin-based polio vaccine. *Plos One*. 2020; 15 (1): 1-19. Doi: 10.1371/journal.pone.0228006.
16. Leung A, Tran K, Audet J, Lavineway S, Batien N, Krishnan J. In vitro Inactivation of SARS-CoV-2 using gamma radiation. *Applied Biosafety*. 2020; 25 (3): 157-160. Doi: 10.1177/1535676020934242.
17. Ohshima H, Lida Y, Matsuda A, Kuwabara M. Damage induced by hydroxyl radicals generated in the hydration layer of γ -irradiated frozen aqueous solution of DNA. *Journal of Radiation Research*, 1996; 37 (3): 199-207. Doi: 10.1269/jrr.37.199.
18. Pruss A, Kao M, Gohs U, Koscielny J, Von Versen R, Pauli G. Effects of gamma irradiation on human cortical bone transplants contaminated with enveloped and non-contaminated viruses. *Biologicals*. 2002; 30 (2): 125-133. Doi: 10.1006/biol.2002.0326.
19. Seo HS. Application of radiation technology in vaccines development. *Clinical and Experimental Vaccine Research*. 2015; 4 (2): 145-158. Doi: 10.7774/cevr.2015.4.2.145.
20. Menéndez-Arias L, Andino R. Viral polymerases. *Virus Research*. 2017; 234: 1-3. Doi: 10.1016/j.virusres.2017.02.003.
21. Feldmann F, Shupert WL, Haddock E, Twardoski B, Feldmann, H. Gamma irradiation as an effective method for inactivation of emerging viral pathogens. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2019; 100 (5): 1275-1277. Doi: 10.4269/ajtmh.18-0937.
22. Delrue I, Verzele D, Madder A, Nauwynck HJ. Inactivated virus vaccines from chemistry to prophylaxis: merits, risks and challenges. *Expert review of vaccines*. 2012; 11 (6): 695-719. Doi: 10.1586/erv.12.38.
23. Boudarkov VA, Sereda AD, Carpov ON, Ponomarev VN. Using gamma rays to inactivate African swine fever virus. *Russian agricultural sciences*. 2016; 42 (5): 375-377. Doi: 10.3103/S1068367416050025.
24. Furuya Y. Return of inactivated whole-virus vaccine for superior efficacy. *Immunology and cell biology*. 2012; 90 (6): 571-578. Doi: 10.1038/icb.2011.70.
25. Lomax ME, Folkes LK, O'neill P. Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy. *Clinical Oncology*. 2013; 25 (10): 578-585. Doi: 10.1016/j.clon.2013.06.007.
26. Barr JN, Fearn R. How RNA viruses maintain their genome integrity. *Journal of General Virology*. 2010; 91 (6): 1373-1387. Doi: 10.1099/vir.0.020818-0.
27. Schmidt T, Hoburg AT, Gohs U, Schumann W, Sim-Brandenburg JW, Nitsche A, et al. Inactivation effect of standard and fractionated electron beam irradiation on enveloped and non-enveloped viruses in a tendon transplant model. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2012; 39 (1): 29-35. Doi: 10.1159/000336380.
28. IPEN - INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES. Nuclear contra a COVID-19. São Paulo, 08 de julho de 2021. Disponível em: <https://www.ipen.br/portal_por/portal/interna.php?secao_id=39&campo=16067>. Acesso em 26/07/2021.

29. Botosso VF, Jorge SAC, Astray RM, de Sá Guimarães AM, Mathor MB, de Carneiro PDS, et al. Anti-SARS-CoV-2 equine F (Ab')₂ immunoglobulin as a possible therapy for COVID-19. *Scientific reports*, 2022; 12 (1): 1-17. Doi: 10.1038/s41598-022-07793-1.
30. IPEN – Instituto de Pesquisas energéticas e nucleares. Radioesterilização. Disponível em: <https://www.ipen.br/portal_por/portal/interna.php?secao_id=741>. Acesso em 31/07/2021.
31. IAEA - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation Effective in Sterilizing Personal Protective Equipment Except For Respiratory Masks – IAEA. Viena, Austria, 30 de abril de 2020. Disponível em: <<https://www.iaea.org/newscenter/pressreleases/radiation-effective-in-sterilizing-personal-protective-equipment-except-for-respiratory-masks-iaea>>. Acesso em: 26 de jul. de 2021.
32. Keene B, Bourham M, Viswanath V, Avci H, Kotek R. Characterization of degradation of polypropylene nonwovens irradiated by γ -ray. *Journal of Applied Polymer Science*. 2014; 131 (4): 1-10. Doi: 10.1002/app.39917.
33. Luksamijarulkul P, Aiempadit N, Vatanasomboon P. Microbial contamination on used surgical masks among hospital personnel and microbial air quality in their working wards: A hospital in Bangkok. *Oman Medical Journal*. 2014; 29 (5): 346-350. Doi: 10.5001/omj.2014.92.
34. Gerchman Y, Mamane H, Friedman N, Mandelboim M. UV-LED Disinfection of Coronavirus: Wavelength effect. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2020; 212: 1-7. Doi: 10.1016/j.jphotobiol.2020.112044.
35. JORNAL DA USP. Radiação UVC inativa coronavírus, mas tipo de material e áreas não expostas limitam eficácia. São Paulo, 08 de jul. de 2021. Disponível em: <<https://jornal.usp.br/ciencias/radiacao-uvc-inativa-coronavirus-mas-tipo-de-material-e-areas-nao-expostas-limitam-eficacia/>> Acesso em: 26 de jul. de 2021.