



Avanços Científicos em Medicina 3

Marcia Arantes Marques
(Organizadora)



Avanços Científicos em Medicina 3

Marcia Arantes Marques
(Organizadora)

Editora Chefe

Marcia A. A. Marques

Coordenadora Editorial

Isabela Arantes Ferreira

Bibliotecária

Maria Alice Ferreira

Diagramação

Marcos Antonio Ribeiro Pereira

Arte da Capa

Matheus Lacerra

Imagem da Capa

Freepik

Revisão

Os autores

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



2021 by Bookerfield Editora

Copyright © Bookerfield Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Bookerfield Editora

Os autores cedem à Bookerfield Editora os direitos para esta edição

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

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

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

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

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

CONSELHO EDITORIAL

Ciências Agrárias

Afrânio Silva Madeiro
Alirya Magda Santos do Vale Gomes
Ana Luiza Trovo Marques de Souza
André Giarola Boscarato
Carlos Eugenio Fortes Teixeira
Daniela Kunkel
Daniele Cristina Ficanha
Elson Barbosa da Silva Junior
Fabiana Schiochet
Fernanda Beatriz Pereira Cavalcanti
Fernanda Morcatti Coura
Flávio José Rodrigues Cruz
Guilherme Donadel
Heiriane Martins Sousa
Jairton Fraga Araujo
João Francisco Severo Santos
Joelma Leão Buchir
Kleber Fernando Pereira
Maria Cristina Bueno Coelho
Monyck Jeane dos Santos Lopes
Pablo Daniel Freitas Bueno
Renato Jaqueto Goes

Ciências Biológicas

Afrânio Silva Madeiro
Alirya Magda Santos do Vale Gomes
Ana Luiza Trovo Marques de Souza
André Giarola Boscarato
Carlos Eugenio Fortes Teixeira
Daniela Kunkel
Daniele Cristina Ficanha
Elson Barbosa da Silva Junior
Fabiana Schiochet
Fernanda Beatriz Pereira Cavalcanti
Fernanda Morcatti Coura

Flávio José Rodrigues Cruz
Guilherme Donadel
Heiriane Martins Sousa
Jairton Fraga Araujo
João Francisco Severo Santos
Joelma Leão Buchir
Kleber Fernando Pereira
Maria Cristina Bueno Coelho
Monyck Jeane dos Santos Lopes
Pablo Daniel Freitas Bueno
Renato Jaqueto Goes

Ciências da Saúde

Alexandre Visconti Brick
Aline Correa de Carvalho
Ana Luiza Trovo Marques de Souza
André de Araújo Pinto
Andressa Ribeiro Contreira
Bárbara de Lima Lucas
Bianca Barros da Costa
Carlos Vinícius Pagani Vieira
Machado
Débora Cristina Damasceno
Deborah Margatho Ramos
Gonçalves
Diogo de Sousa Martins
Elisângela Rodrigues Carrijo
Emanuel Tenório Paulino
Estélio Henrique Martin Dantas
Eveline Fernandes Vale
Fabiana Leticia Sbaraini
Fabio José Antonio da Silva
Jaqueline Rocha Borges dos Santos
João Francisco Severo Santos
José Aderval Aragão
José Roberto Zaffalon Júnior

Jovino Gentilini Junior
Juliane Campos Inácio
Líncon Bordignon Somensi
Luciane Cristina Arantes
Marcela Melo dos santos
Marcello Alberton Herdt
Marcelo de Oliveira Pinto
Marcos Guimarães de Souza Cunha
Maria Patricia Costa Villela
Nara Michelle Moura Soares
Paulo Celso Budri Freire
Pedro Paulo Gattai Gomes
Raquel Ayres
Renata Oliveira de Barcelos
Renato Carlos Machado
Roberson Geovani Casarin
Rogério Wagner da Silva
Sergio Ibañez Nunes
Sheila Moura Amaral
Taíza Fernanda Ramalhais
Vivian Victoria Vivanco Valenzuela

Ciências Exatas e da Terra

Andrea Sartori Jabur
Antônio Carlos Ribeiro Araújo Júnior
Cláudia Hitomi Watanabe Rezende
Dalvani Fernandes
Evandro Preuss
Gerson Cruz Araujo
Gisane Aparecida Michelin
Henrique Mariano Costa do Amaral
Henrique Pereira Oliveira d'Eça
Neves
Isidro ihadua
João César Abreu de Oliveira Filho
Lívia Sancho
Manolo Cleiton Costa de Freitas
Marcos Vinicius de Oliveira Peres
Paulo Celso Budri Freire
Sonia Tomie Tanimoto

Tânia do Carmo
Vagner Marques de Moura
Valdecir Alves dos Santos Júnior

Ciências Humanas

Ana Margarida Theodoro Caminhas
Ana Maria Senac Figueroa
Anderson Dantas da Silva Brito
Breno Henrique Ferreira Cypriano
Bruno Cezar Silva
Camila Bueno Grejo
Camila de Vasconcelos Tabares
Cássia Maria Bonifácio
Dalvani Fernandes
Edonilce da Rocha Barros
Elisângela Rodrigues Carrijo
Eulalia Fabiano
João César Abreu de Oliveira Filho
João Francisco Severo Santos
Josael Jario Santos Lima
Luciano Sérgio Ventin Bomfim
Marcos Pereira dos Santos
Marcos Pereira Magalhães
Miguel Rodrigues Netto
Rebecca Bianca de Melo Magalhães
Roberson Geovani Casarin
Taíza Fernanda Ramalhais
Tatiane dos Santos Duarte

Ciências Sociais Aplicadas

Ana Margarida Theodoro Caminhas
Bruno Cezar Silva
Camila Augusta Alves Pereira
Camila Nathalia Padula de Godoy
Dandara Scarlet Sousa Gomes
Bacelar
Daniel Nascimento e Silva
Darline Maria Santos Bulhões
Denise Tanaka dos Santos
Elisângela Rodrigues Carrijo

Eulalia Fabiano
Fabio Adriano Stürmer Kinsel
Fabricio Lemos de Siqueira Mendes
Gelson Mario Filho
Hector Rodrigo Ribeiro Paes Ferraz
Helga Midori Iwamoto
Horácio Monteschio
João Francisco Severo Santos
Josael Jario Santos Lima
Leandro Nunes Soares da Silva
Lucas Rosas de Freitas Sá Barreto
Miguel Rodrigues Netto
Nagib Abrahão Duailibe Neto
Nelson Calsavara Garcia Junior
Patrícia Loureiro Abreu Alves
Barbosa
Renato Obikawa Kyosen
Sandy Rodrigues Faidherb
Silvia Helena Ribeiro Cruz
Solange Kileber
Stella Villela Florêncio
Thiago Nery Pandolfo
Veyzon Campos Muniz
Ygor de Siqueira Mendes Mendonça

Engenharias

Alejandro Victor Hidalgo Valdivia
Alex Milton Albergaria Campos
Ana Carla Fernandes Gasques
Andrea Sartori Jabur
Arlete Barbosa dos Reis
Cristhiane Michiko Passos Okawa
Daniele Cristina Ficanha
Diego Matheus Sanches
Elaine Patricia Arantes
Fernando Oliveira de Andrade
Henrique Mariano Costa do Amaral
Jefferson Sousa Farias
Laís Roberta Galdino de Oliveira
Leila Cristina Nunes Ribeiro

Letícia Reis Batista Rosas
Marcelo Henrique da Silva
Marcelo Marques
Marcos Guimarães de Souza Cunha
Mileni Cristina da Silva
Renata Jardim Martini
Thiago Averaldo Bimestre
Tiago Brandão Costa
Valdecir Alves dos Santos Júnior

Linguística, Letras e Artes

Adriana dos Reis Silva
Anderson Dantas da Silva Brito
Danuzia Marjorye Santos de Araújo
Jane Catia Pereira Melo
Luceni Lazara da Costa Ribeiro
Márcia Donizete Leite-Oliveira
Maria Christina da Silva Firmino
Cervera
Simone Oliveira Vieira Peres
Thiago Blanch Pires
Vera Regiane Brescovici Nunes

Multidisciplinar

Alejandro Victor Hidalgo Valdivia
Ana Carla Fernandes Gasques
Ana Margarida Theodoro Caminhas
Andrea Sartori Jabur
Arlete Barbosa dos Reis
Cláudia Hitomi Watanabe Rezende
Cristhiane Michiko Passos Okawa
Érika Alves Tavares Marques
Fabricio Lemos de Siqueira Mendes
Fernando Oliveira de Andrade
Isidro ihadua
José Amorim
Marcelo Marques

Avanços Científicos em Medicina 3

Editora Chefe Marcia A. A. Marques
Coordenadora Editorial Isabela Arantes Ferreira
Bibliotecária Maria Alice Ferreira
Diagramação Marcos Antonio Ribeiro Pereira
Revisão Os Autores

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

Avanços científicos em medicina 3 [livro
eletrônico] / organizadora Marcia Arantes
Marques. -- São Paulo : Bookerfield, 2022.
PDF

ISBN 978-65-89929-44-4

1. Anatomia 2. Medicina 3. Oftalmologia
4. Pesquisa científica I. Marques, Marcia A

22-100885

CDD-610

NLM-WB 100

Índices para catálogo sistemático:

1. Medicina 610

Maria Alice Ferreira - Bibliotecária - CRB-8/7964

DOI 10.53268/BKF22040500

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



DECLARAÇÃO DOS AUTORES

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

APRESENTAÇÃO

Este livro reúne trabalhos científicos relevantes em Ciências Médicas. Decidiu-se pela divisão em quatro seções: i) área básica; ii) área clínica; iii) medicina diagnóstica; iv) área cirúrgica.

Pelo primeiro capítulo são abordados os significativos avanços na qualidade dos conhecimentos acerca da anatomia humana, bem como nas técnicas de preservação dos corpos, nos métodos de estudo e nas formas de intervenção cirúrgicas, permitindo aos profissionais a aquisição de conhecimento, visando a realização de procedimentos cada vez mais seguros, minimamente invasivos e naturalmente, menos danosos aos pacientes, possibilitando assim uma recuperação pós-cirúrgica em menor tempo.

Por meio do segundo capítulo são apresentadas algumas das mais recentes tendências da evolução do conhecimento na área da motricidade humana, segundo as diretrizes estabelecidas em 2017 pelo *American College of Sports Medicine*, que bem demonstra a importância atribuída ao exercício físico na saúde.

Pelos capítulos terceiro e quarto foi avaliado o tratamento cirúrgico da fibrilação atrial crônica com US em pacientes com lesão valvar mitral, considerando-se caracterização clínica pré-operatória e acompanhamento desses pacientes no pós-operatório imediato, na alta hospitalar e tardio até 60 meses. Concluindo-se que o tratamento cirúrgico da FAC com US concomitante e a cirurgia valvar mitral é factível e satisfatório, com manutenção do ritmo sinusal na maioria dos pacientes (83,8%), após 60 meses de seguimento.

O quinto capítulo trata da comparação do potencial evocado auditivo cortical P1 em neonatos e lactentes nascidos a termo e pré-termo. A utilização do potencial evocado auditivo cortical P1 em crianças destaca-se pela verificação da maturação auditiva e pesquisa dos níveis mínimos de respostas corticais. Concluiu-se que o nível mínimo de resposta cortical foi maior para os nascidos pré-termo durante o primeiro mês de vida, e a latência do potencial P1 foi maior para os nascidos pré-termo avaliados até o terceiro mês de vida.

Por meio do sexto capítulo, foi estudada a segurança e eficácia de formulações intraoculares contendo Lutefina e Zeaxantina, isolada ou combinada com Azul Brilhante ou Azul de Trypan em cirurgia de catarata e vitreorretiniana.

O sétimo capítulo trata do diagnóstico precoce da púrpura trombocitopênica trombótica. Diante de seu grave curso e, por muitas vezes estar associada a outros distúrbios hematológicos, o diagnóstico precoce é essencial a fim de melhor definir o prognóstico e a terapêutica adequada. Entre os métodos de diagnóstico laboratorial, a técnica de citometria de fluxo

tem mostrado melhor eficácia, devido a sua sensibilidade e especificidade. Pelo presente capítulo foi investigada a presença de ensaios clínicos os quais utilizam a citometria de fluxo como método preferencial para o diagnóstico da PTT a fim de realizar uma reflexão do impacto sobre o desfecho clínico da doença.

Por meio do oitavo capítulo é buscada a detecção precoce de neoplasias malignas via biomarcadores tumorais, considerada alternativa promissora, especialmente quando associada a tecnologias inovadoras passíveis de miniaturização. A técnica de *Phage Display* permite selecionar peptídeos ligantes aos mais diversos alvos, superando a heterogeneidade dos tumores e abrindo caminhos para a evolução das práticas clínicas. Neste capítulo, são abordados os principais aspectos relacionados a tumores e os atuais desafios no diagnóstico da doença, bem como a utilização da técnica de *Phage Display* na descoberta de novos biomarcadores.

Pelo nono capítulo foi realizada a avaliação de biomarcadores em mulheres com dor associada à endometriose. Ambos os tratamentos trouxeram benefícios aos pacientes e a redução dos biomarcadores não foi correlacionada à melhora dos escores de dor pélvica e dismenorreia.

Pelo décimo capítulo foram selecionados pacientes submetidos a abdominoplastia e mamoplastia os quais receberam a aplicação de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) diretamente na cicatriz e comparando-o com o segmento cicatricial oposto sem PRP. Concluiu-se que o uso intradérmico do PRP, apresentou-se promissor, contribuindo beneficamente na evolução do processo cicatricial, com melhores resultados aos 4 dias e 90 dias de pós-operatório.

Desejo uma boa leitura!

Dra. Marcia Arantes Marques

SUMÁRIO

SEÇÃO 1 ÁREA BÁSICA

CAPÍTULO 114

EVOLUÇÃO DO ENSINO DE ANATOMIA

Rogério Wagner da Silva

José Roberto Pimenta de Godoy

Simone Cruz Longatti

DOI 10.53268/BKF22040501

CAPÍTULO 221

FRONTEIRAS DO CONHECIMENTO EM EXERCÍCIO FÍSICO

Estélio Henrique Martin Dantas

Verônica Virginia Santos Lessa

Antonio Carlos Leal Cortez

Júlio César Camargo Alves

Estevão Scudese Dessimoni

Camila Moura Ferreira Vorkapic

Renato Ramos Coelho

Karollyni Bastos Andrade Dantas

DOI 10.53268/BKF22040502

SEÇÃO 2 ÁREA CLÍNICA: CIRURGIA

CAPÍTULO 337

CIRURGIA DA FIBRILAÇÃO ATRIAL CRÔNICA COM ULTRASSOM EM PACIENTES COM LESÃO VALVAR MITRAL: PARTE I

Alexandre Visconti Brick

Domingo Marcolino Braile (*in memoriam*)

DOI 10.53268/BKF22040503

CAPÍTULO 454

CIRURGIA DA FIBRILAÇÃO ATRIAL CRÔNICA COM ULTRASSOM EM PACIENTES COM LESÃO VALVAR MITRAL: PARTE II

Alexandre Visconti Brick

Domingo Marcolino Braile (*in memoriam*)

DOI 10.53268/BKF22040504

CAPÍTULO 572

POTENCIAL EVOCADO AUDITIVO CORTICAL EM NASCIDOS A TERMO E PRÉ-TERMO

Dayane Domeneghini Didoné

Alessandra Spada Durante

Pricila Sleifer

DOI 10.53268/BKF22040505

CAPÍTULO 6	85
O USO DE LUTEÍNA E ZEAXANTINA COMO CORANTES INTRAOCULARES PARA CIRURGIA OFTALMOLÓGICA	
Diogo Sousa-Martins DOI 10.53268/BKF22040506	
CAPÍTULO 7	100
CITOMETRIA DE FLUXO COMO FERRAMENTA DIAGNÓSTICA PARA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA: UMA MINI-REVISÃO	
Laís Dames Kaizer Letícia Sobrinho de Oliveira Sabrina Furlan Marcelo Paschoalete Carlin Lívia Furquim de Castro DOI 10.53268/BKF22040507	
CAPÍTULO 8	117
PHAGE DISPLAY NO DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSORES APLICADOS À ONCOLOGIA	
Rafael da Fonseca Alves Isabella Castro Martins Matheus Alves Ribeiro Maria Del Pilar Taboada Sotomayor Thaise Gonçalves de Araújo DOI 10.53268/BKF22040508	
CAPÍTULO 9	131
AValiação de biomarcadores em mulheres com endometriose e dor usuárias do implante com etonogestrel ou sistema intrauterino com levonorgestrel: ensaio clínico randomizado	
Deborah Margatho Nelsilene Mota Carvalho Luis Bahamondes DOI 10.53268/BKF22040509	
CAPÍTULO 10	149
AValiação de cicatrizes de cirurgias estéticas de mama e abdome após aplicação de plasma rico em plaquetas autólogo	
Jovino Gentilini Junior DOI 10.53268/BKF22040510	
ÍNDICE REMISSIVO	167
SOBRE A ORGANIZADORA	171

The background of the page features a grayscale photograph of a doctor. The top half shows the doctor's white coat and a stethoscope draped around their neck. The bottom half shows a close-up of the doctor's hand holding the stethoscope and their wrist wearing a watch. A solid green horizontal band is positioned across the middle of the image, containing the text 'ÁREA BÁSICA'. To the right of this band is a blue vertical strip containing the text 'SEÇÃO 1'.

ÁREA BÁSICA

SEÇÃO 1

EVOLUÇÃO DO ENSINO DE ANATOMIA

Rogério Wagner da Silva

lattes.cnpq.br/8062101250870279

Universidade Católica de Brasília –
Brasília/DF

José Roberto Pimenta de Godoy

lattes.cnpq.br/9928349180956142

Universidade de Brasília – Brasília/
DF

Simone Cruz Longatti

lattes.cnpq.br/0459458620075861

Universidade Católica de Brasília –
Brasília/DF

RESUMO – O estudo do corpo humano é uma área de grande dedicação investigativa e de notória importância na formação acadêmica dos profissionais de saúde. Ao longo dos tempos, o conhecimento anatômico evoluiu no âmbito quantitativo e qualitativo da ciência, pois erros uma vez cometidos foram gradativamente corrigidos com o avanço dos métodos de aprendizado. Por meio de um exponencial e significativo salto na qualidade dos conhecimentos acerca da anatomia humana, bem como nas técnicas de preservação dos

corpos, nos métodos de estudo e nas formas de intervenção cirúrgicas, os profissionais possuem melhor conhecimento e consequentemente, realizam procedimentos cada vez mais seguros, minimamente invasivos e naturalmente, menos danosos aos pacientes, possibilitando assim uma recuperação pós-cirúrgica em menor tempo.

PALAVRAS-CHAVE: Anatomia humana; Evolução do estudo; História da anatomia.

1. INTRODUÇÃO

Os métodos de estudo anatômico evoluíram grandemente desde os primeiros apontamentos realizados pela humanidade sob forma de pinturas e esculturas na pré-história até os dias atuais. Ao longo de todo o tempo o conhecimento sobre as estruturas do corpo humano, seus órgãos e funções, foram identificados, descritos de maneira cada vez mais criteriosa e muitas vezes replicados em modelos artificiais para melhor compreensão e registro dos conhecimentos. Técnicas muito precisas e cada vez mais tecnológicas têm sido aplicadas no ensino da anatomia humana aumentando consideravelmente o

conhecimento e a transmissão dele na formação dos novos profissionais médicos e de todos os demais profissionais de saúde.

2. DESENVOLVIMENTO

O estudo da anatomia humana acompanha a trajetória do homem moderno. As primeiras identificações de desenhos de corpos humanos possuem datação entre 45 e 60 mil anos, na ilha de Bornéu, no sudeste asiático. Considerada a obra mais antiga que se tem registro, a caverna Lubang Jeriji Saléh possui uma linda arte figurativa de animais rodeados por uma imensa quantidade de mãos humanas e alguns desenhos humanos, indicando a morfologia e a proporcionalidade entre as espécies. Nesse registro histórico é possível prever que houve uma forma de transmissão de conhecimentos entre os homens mais primitivos e mesmo de maneira rudimentar e sem as melhores condições, a intenção de documentar o conhecimento detido por aquele grupo comunitário naquele momento histórico em que sequer havia a possibilidade de transmissão através da escrita, que só surgiria algumas centenas de anos mais tarde.

Neste cenário, as manifestações artísticas eram compreendidas como uma expressão de evolução intelectual de determinadas comunidades e civilizações, portanto, os desenhos determinavam um importante meio de imposição e demonstração de poder e superioridade. Com base neste contexto histórico, pode-se ressaltar os achados da caverna de Hohle Fels, localizada no sul da Alemanha, onde foi encontrada e datada com pelo menos 35 a 40 mil anos um manequim de um corpo feminino sem a cabeça, trata-se de uma escultura talhada em pedra, com o contorno humano e grande riqueza de detalhes. Nesta mesma caverna também foi encontrado uma escultura de pênis, que segundo arqueólogos e pesquisadores, além de ser uma representação simbólica do genital masculino, denotam o conhecimento morfológico e aspectos culturais da civilização naquele momento. Estes são apenas alguns dos mais remotos e antigos retratos históricos do quanto o homem estava atendo a replicar sua morfologia e deixar registros de seus conhecimentos para futuras gerações.

Muito mais como uma expressão de religiosidade e culto aos Deuses, e não necessariamente com o intuito de repassar o conhecimento para as gerações futuras, a mumificação consistiu no uso de técnicas de preservação, a fim de salvaguardar aquele corpo para uma nova vida de acordo com as crenças sociais no cenário histórico do momento em questão. Naturalmente, quando ouvimos falar em múmias a primeira remissão feita é com relação as múmias egípcias, contudo as datações realizadas pelos arqueólogos sugerem algo entre 1,5 e 2 mil anos, período em que, realmente elas são as que possuem a maior popularidade, contudo no deserto do Atacama, considerado um dos lugares mais secos do mundo, proporcionou condições favoráveis à preservação das múmias da cultura de Chinchoro, que após datação com radiocarbono tiveram idade estimada entre 5 e 7 mil anos de

idade, ou seja no mínimo 2 mil anos a mais do que qualquer múmia egípcia.

O que chama real atenção com relação a mumificação são os conhecimentos anatômicos detidos no momento histórico em questão e a utilização das diferentes técnicas utilizadas para promover a preservação dos tecidos do corpo humano, valendo-se da evisceração; da desidratação, realizada lentamente por aquecimento, ou com a utilização de sais minerais, ou ainda cinzas; da unção em óleos; do empalhamento e da moldagem de estruturas complementares com argila, massas e colas; dentre outras. Todos estes procedimentos e a sequencia adequada formando um protocolo, que passo a passo deve ser entendido como um grande avanço social e do conhecimento detido naquele momento tão remoto.

Papiros encontrados do antigo Egito datados entre 1600 e 1550 a.C. são um dos mais antigos e remotos documentos que descrevem a anatomia humana do sistema circulatório. Os primeiros trabalhos médicos realmente científicos e mais antigos que se tem notícia que chegaram até os nossos dias são os realizados por Hipócrates 460-377 a.C., descrevendo a estrutura esquelética e muscular. Os trabalhos do indiano Charak datam de aproximadamente 320 a.C. também descrevem a anatomia humana. O primeiro registro histórico de dissecações e utilização de cadáveres humanos para estudos são de 400 a.C. quando Herófilo e Erasístrato, detinham permissão do Estado para realizar estudos com criminosos. O Grego Teofrasto, discípulo de Aristóteles, também realizou dissecações em humanos até 287 a.C. e foi ele que utilizou pela primeira vez o termo “anatomia”.

Estes são apenas alguns dos poucos e raros relatos que podemos encontrar acerca do conhecimento do homem sobre sua anatomia, todos muito importantes em sua respectiva época, direcionavam condutas, mas inevitavelmente possuíam erros que atualmente estão claramente elucidados, entretanto em nada desmerece o avanço científico no tempo em questão.

Assim, podemos chegar a um ambiente acadêmico onde realmente havia uma estruturação de conhecimentos prévios e passagem destes para formação de profissionais de saúde, com conhecimento mais elaborado e sistematizado para ser aplicado no tratamento e na promoção de saúde de quem estivesse sendo assistido. É nesse contexto que surge a Escola de Medicina de Alexandria, sendo que sua existência perdurou entre 300 a.C. e 640 d.C. E um dos mais geniosos estudantes formados por essa escola foi Galeno, que com suas ideias, descrições e determinações dominaram e orientaram o estudo da anatomia médica ocidental por quase 2 mil anos.

Com o declínio do império greco-romano e dando um grande salto histórico para os séculos 14 e 16 na Europa, houve um grande avanço no estudo, pois com permissão do Estado, os estudos em cadáveres de criminosos possibilitaram descrições mais precisas de todo o corpo humano, havendo uma grande ruptura com considerações que perduravam por anos equivocadamente. No século 16, com o incremento da imprensa, Andreas Versalius publicou um tratado de anatomia identificado como “De

humani corporis fabrica libri septem”, que consistia de suas observações mais modernas e traziam rupturas com as ideias propostas por Galeno que dominavam e orientavam os estudos naquela época.

Mais tarde podemos notar que a anatomia em crescente interesse desperta fascinação em muitos e importantes artistas dos séculos XVI, XVII e XVIII, como Michelangelo, Leonardo da Vinci e Rembrandt, muitos deles participaram de dissecações e vivisseções, que serviam de fonte de estudos para atingirem a mais alta qualidade de suas esculturas, pinturas, desenhos e livros onde organizavam ilustrações com descrições precisas de procedimentos médicos, acessos cirúrgicos ou mesmo simples descrições topográficas com exímia perfeição de detalhes, nunca vistos anteriormente na orientação de estudos anatômicos.

A descoberta dos Raios-X marcou o início de uma nova era da anatomia, em que se tornaria possível visualizar o interior do corpo sem o lesar. A radiografia é o exame de imagem mais antigo que existe, seu uso teve início na prática médica em 1895 após a descoberta dos raios X por Wilhelm Conrad Roentgen. Trabalhando com ampola a vácuo, ele descobriu raios que atravessavam vidro e papel e que não eram a luz e sim radiações eletromagnéticas e na medida em que atravessam diferentes partes do corpo, sua intensidade sofria atenuação, e quanto mais densa a parte estudada, maior a atenuação. Desta forma, os ossos, que são partes duras do corpo, atenuam uma grande quantidade de raios X e aparecem mais brancos nos filmes de radiografias. Partes moles, como, gordura, músculos, e vísceras, atenuam poucos raios X e aparecem opacas. O pesquisador fez seu primeiro raio-X da mão de sua esposa e verificou que os raios X atravessavam corpos humanos.

A introdução de tecnologias computadorizadas no processamento de imagens nos anos 70 multiplicou ainda mais as possibilidades do diagnóstico visual, permitindo efetuar tomografias, ou seja, associar a tecnologia tradicional de raios-X com o processamento do computador para gerar uma série de imagens transversais do corpo que podem ser posteriormente combinadas para formar uma imagem de raio-X tridimensional. Imagens de TC são mais detalhadas do que radiografias simples e dão aos médicos a capacidade de visualizar estruturas dentro do corpo de muitos ângulos diferentes, assim como modelos tridimensionais com níveis de pormenorização cada vez mais elevados, e por fim, a representação animada de processos funcionais do organismo. Neste sentido, incorporar novas estratégias de investigação anatômicas têm sido cada vez mais rápido e felizmente cada vez mais fáceis de serem implementadas, por exemplo, a utilização de substâncias utilizadas como contrastes e marcadores específicos que tecnologicamente possuem afinidade de se associarem a células e tecidos de acordo com as afinidades de atração cada vez mais individuais, possibilitando obter imagens em tempo real dentro do corpo humano, e sendo capazes de promover visualizações que conduzem a um diagnóstico com precisão anteriormente inimaginável.

Várias outras maneiras de estudar a anatomia foram aperfeiçoadas e desenvolvidas a partir de uma técnica originária. O grande marco realmente foi a descoberta do raio-X para realização das radiografias, pois dele derivaram a grande maioria dos exames de imagem como a tomografia computadorizada, ultrassonografia, ecografia, angiografia, ressonância magnética, termografia, dentre outros. Naturalmente que os processos que levam a formação das imagens são diferentes entre cada um dos exames citados, contudo todos compartilham do princípio de obtenção da imagem sem realizar nenhum acesso físico ou são minimamente invasivos.

Da mesma forma, a microscopia óptica possibilita em condições normais a ampliação das estruturas em até 1000 vezes e a associação das técnicas de microscopia a um computador, conduziu à microscopia eletrônica, que é capaz de gerar aumentos úteis de até 400 mil vezes. Nestes microscópios os feixes de elétrons são capazes de formar a imagem fornecendo detalhes das estruturas intracelulares, de cada organela e inclusive dependendo do grau de ampliação e da técnica utilizada dando detalhes ao nível da estrutura molecular dos tecidos que formam cada uma das células.

A incorporação da tecnologia ao estudo da anatomia é um avanço constante. Atualmente modelos computadorizados realizados a partir de scanners, tomografias e ressonâncias, conseguem fielmente reproduzir o corpo humano e cada uma de suas estruturas, órgãos e sistemas, produzindo softwares que são utilizados na formação de novos profissionais de saúde. Estes programas são capazes de replicar com altíssima perfeição o corpo humano em “mesas de simulação anatômica”, em que podem ser realizadas aulas e treinamento.

Alguns softwares são capazes de realizar até projeções em 3D colocando virtualmente desde um único órgão até o corpo inteiro no mesmo ambiente de estudo como um holograma que pode ser controlado facilmente com um smartphone. Outros softwares após baixarem os arquivos da tomografia e do scanner, são capazes de prover ajustes cirúrgicos e de realizarem virtualmente todos os procedimentos pré-intervenção médica de cada passo que será realizado durante o procedimento real. É possível simular desde como será uma simples conduta em um tratamento odontológico, desde o início do tratamento até o resultado final que será obtido. Da mesma forma pode-se realizar o treinamento de várias equipes que se preparam para uma grande intervenção cirúrgica, como por exemplo a separação de gêmeos siameses, prevendo as ações de cada um dos componentes da equipe, os resultados das suas ações e o resultado final do procedimento. Este tipo de treinamento assegura um preparo de alta qualidade e possibilita maiores chances de sucesso aos procedimentos mais complexos.

Estes exemplos de evolução tecnológica são constantes. Com o intuito de realizar os procedimentos cirúrgicos e promover maior segurança a quem opera e menor tempo de recuperação a quem é submetido a um procedimento cirúrgico as técnicas minimamente invasivas têm sido um grande avanço na

medicina. Atualmente muitas das intervenções podem ser realizadas com acesso vídeo laparoscópico, que consiste na utilização de um instrumental cirúrgico e de uma fonte luminosa de fibra óptica por pequenos pontos de acesso para realização do procedimento. Atualmente a mais moderna forma de intervenção cirúrgica consiste no aprimoramento das vídeo laparoscopias, pois entre o cirurgião e o instrumental foi colocado um “robô”, criando o termo cirurgias robóticas, com todos os controles realizados pelo médico cirurgião sendo feitos de a partir de uma estação computadorizada dentro do centro cirúrgico. Um profissional devidamente habilitado nessa nova técnica pode realizar os procedimentos com maior eficiência e menor lesão aos tecidos adjacentes.

Com o advento dos polímeros plásticos tem sido possível a construção de modelos sintéticos cada vez mais fidedignos às peças naturais e grandes indústrias possuem os mais diversos modelos de órgãos, sistemas individualizados ou multi-sistêmicos que podem ser utilizados como coadjuvantes no ensino para posterior estudo nas peças naturais.

Outro grande avanço são os manequins simulacros anatômicos utilizados no treinamento dos estudantes de saúde. Estes bonecos possuem altíssima tecnologia e podem ser controlados via programação ou em tempo real por um operador que simula todo um quadro de sintomas e procedimentos que devem ser realizados na sequência correta para que o “paciente” sobreviva à intervenção que está sendo simulada. Podem ser realizadas as mais diversas simulações, como: acessos, verificação de pressão arterial, partos, dentre outros, de acordo com o modelo e o fabricante de cada um destes simulacros.

As técnicas de preservação dos cadáveres também apresentaram um grande avanço quando pensamos em por quanto tempo podemos preservar os corpos humanos evitando seu deterioramento e aumentando consideravelmente o tempo que estes corpos podem servir ao estudo e a formação dos novos profissionais de saúde. A conservação em formol passou a ser utilizada no início do século 19 para manter e preservar os cadáveres para estudo evitando sua decomposição natural, contudo sua toxicidade sempre foi um fator de desconforto, motivando a busca por outras formas de se preservar os cadáveres. Diante disso outras técnicas de preservação foram aplicadas, como a preservação em acetona, em glicerina ou em polímeros plásticos, onde cada um apresenta características distintas no tocante a preservação, mas o intuito final é a manutenção da morfologia com a melhor fidedignidade ao tecido in vivo.

Existem técnicas mais modernas que são capazes de preservar os cadáveres e manter a flexibilidade dos tecidos muito próximos a quando estavam vivos, contudo possuem menor durabilidade preservando o corpo por menos de 2 anos; entretanto técnicas como a imersão em silicone promovem maior alteração na consistência dos tecidos corporais, entretanto são estimadas em preservar o corpo humano por até 15 mil anos.

Por fim o que se tem de mais recente no estudo da anatomia é praticamente o que fazíamos no início da história e naturalmente não mudou muito, que consiste no estudo realizado em cadáveres o mais frescos possível. Essa via de estudo é sem nenhuma sobra de dúvida a que proporcionará maior imersão dos estudantes.

Atualmente existem diversos centros de estudos espalhados pelo mundo que consistem em hospitais e escolas de treinamento que preservam os corpos resfriados e disponibilizam para o estudo com no mínimo 48h pós-morte, desde que liberados legalmente e realizados os exames microbiológicos de acordo com o protocolo e legislação de cada instituição e país que se encontram. Nestes centros de estudo e treinamento são ofertados os cadáveres para realização de dissecações acadêmicas, aprimoramento e desenvolvimento de procedimentos sempre visando melhoria das técnicas e aumento dos conhecimentos dos profissionais em questão.

REFERÊNCIAS

https://bbc.com/portuguese/ciencia/2011/03/110308_africa_humanidade_pu acesso em ago/2021

https://bbc.com/portuguese/reporterbbc/story/2005/07/050725_penismtc em ago/2021

<https://ensinarhistoria.com.br/mumias-atacama-mais-antigas-do-mundo/> em ago/2021

<https://www.nationalgeographicbrasil.com/historia/2018/11/pintura-rupestre-de-40-mil-anos-pode-ser-o-desenho-mais-antigo-do-mundo-de-um> acesso em ago/2021

<https://www.portalsaofrancisco.com.br/historia-geral/historia-da-medicina> em ago/2021

http://pointer.esalq.usp.br/departamentos/leb/aulas/lce1302/Microscopio_Eletronico.pdf em set/2021

EVOLUTION OF ANATOMY TEACHING

ABSTRACT – The study of the human body is an area of great investigative dedication and notorious importance in the academic training of health professionals. Over time, anatomical knowledge has evolved in the quantitative and qualitative scope of science, as errors once made were gradually corrected with the advancement of learning methods. Through an exponential and significant leap in the quality of knowledge about human anatomy, as well as in body preservation techniques, study methods and forms of surgical intervention, professionals have better knowledge and, consequently, perform procedures more and more safe, minimally invasive and naturally, less harmful to patients, thus enabling a post-surgical recovery in less time.

KEYWORDS: Human anatomy; Study evolution; History of anatomy.

CAPÍTULO 2

FRONTEIRAS DO CONHECIMENTO EM EXERCÍCIO FÍSICO

Estélio Henrique Martin Dantas

lattes.cnpq.br/0025606802583162

Programa de Pós-Graduação em
Enfermagem e Biociências da
Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio
de Janeiro

Programa de Pós-Graduação em
Saúde e Ambiente da Universidade
Tiradentes – UNIT, Aracaju, Sergipe

Verônica Virginia Santos Lessa

lattes.cnpq.br/4211906110558054

Curso de Medicina da Universidade
Tiradentes – UNIT, Aracaju, Sergipe

Antonio Carlos Leal Cortez

lattes.cnpq.br/5298380377588942

Centro Universitário Santo Agostinho
- UNIFSA, Teresina, Piauí
Laboratório de Biociências da
Motricidade Humana – LABIMH/
UNIRIO, Rio de Janeiro, Rio de
Janeiro

Júlio César Camargo Alves

lattes.cnpq.br/6683033230500322

Universidade do Estado de Minas
Gerais - UEMG, Ituiutaba, Minas
Gerais

Estevão Scudese Dessimoni

lattes.cnpq.br/3346659270889398

Programa de Pós-graduação em
Enfermagem e Biociências da
Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio
de Janeiro

Laboratório de Ciências do Esporte
e Exercício (LaCEE), Universidade
Católica de Petrópolis, Petrópolis,
Rio de Janeiro

Camila Moura Ferreira Vorkapic

lattes.cnpq.br/0498173854309214

Curso de Medicina da Universidade
Tiradentes – UNIT, Aracaju, Sergipe

Renato Ramos Coelho

lattes.cnpq.br/3439564538555528

Secretaria Municipal de Saúde de
Contagem, Contagem, Minas Gerais

Karollyni Bastos Andrade Dantas

lattes.cnpq.br/0796097214110601

Programa de Pós-graduação em
Saúde e Ambiente da Universidade
Tiradentes – UNIT, Aracaju, Sergipe

RESUMO - A atividade física regular assume um papel primordial na promoção da saúde, qualidade de vida e longevidade da população. Estudos indicam relação significativa entre a prática regular de atividade física e a longevidade entre os idosos. Ademais, sabe-se que o efeito da atividade física pode levar à imunossupressão, quando em excesso, e a uma ativação do sistema imunológico quando controladas as cargas adequadamente, sendo que, durante a pandemia, alguns estudos mostraram a relação de ser fisicamente ativo com condições melhores do sistema imunológico para enfrentamento da COVID-19. Sabemos também que, sendo praticado de forma regular, a prática física pode ser considerada como uma forma única de estresse fisiológico capaz de desencadear adaptações quanto a autofagia seletiva. Em microgravidade (μG) o exercício com resistências elásticas externas ou internas são recomendados para que haja menor comprometimento da densidade mineral óssea. Outrossim, o efeito do exercício no cérebro é único no sentido de melhorar a saúde cerebral e as funções cognitivas através da redução de fatores de risco periféricos para declínio cognitivo além da ação direta através das inúmeras alterações neuroquímicas. Mesmo com todos os benefícios do exercício físico ainda não estando totalmente elucidados, ele tem quebrado barreiras dentro das fronteiras do conhecimento através de inovações significativas, tanto relacionadas a assuntos que dizem respeito ao cotidiano, quanto a nossa nova realidade que se traduz por mudanças decorrentes das modificações sociais e comportamentais acarretadas pela pandemia do COVID-19.

PALAVRAS-CHAVE: Exercício Físico; Longevidade; Imuno-Histoquímica; Macroautofagia; Voo Espacial; Condicionamento Físico Humano. (DeCS/ MeSH).

1. INTRODUÇÃO

O *American College of Sports Medicine* (2018) ressalta que há benefícios a partir da prática de exercícios físicos regularmente por parte da população em geral e nas mais vulneráveis. Como exemplo, crianças hígdas têm ganho de saúde óssea e status de peso. Já para adultos portadores de doenças pré-existentes, como o câncer de mama e próstata, há risco reduzido de mortalidade. Embora uma única sessão de exercícios físicos possa representar um desafio para a homeostase celular, sessões repetidas de exercícios físicos melhoram a imunovigilância e a imunocompetência (DA LUZ SCHEFFER; LATINI, 2020).

Achados revelam a contribuição potencial do exercício na restauração do fluxo de autofagia cardíaca na insuficiência cardíaca, que está associada a um melhor controle de qualidade mitocondrial, bioenergética e função cardíaca (CAMPOS *et al.*, 2017). Além disso, a aptidão cardiorrespiratória se correlaciona com parâmetros intestinais associados à saúde, como diversidade e riqueza taxonômica. O exercício físico também pode aumentar a diversidade microbiana intestinal por meio de vários mecanismos, incluindo

a promoção de um estado anti-inflamatório (CODELLA; LUZI; TERRUZZI, 2018).

Os desafios fisiológicos apresentados pelo voo espacial e em ambientes de μG estão bem documentados. Ambientes μG podem resultar em diminuição da massa muscular, força contrátil e capacidades funcionais. Assim, as recomendações atuais de exercícios para aqueles que experimentam μG envolvem uma combinação de treinamento de força e aeróbio, ou “treinamento simultâneo” (JONES; PETERSEN; HOWATSON, 2019).

O exercício também regula as vias autofagia-lisossomal e ubiquitina-proteassoma, os dois principais sistemas proteolíticos do músculo esquelético, indicando que o exercício participa da regulação dos mecanismos de controle de qualidade dos componentes celulares e, portanto, da saúde muscular (FRANCAUX; DELDICQUE, 2019). Além disso, numerosos estudos demonstraram que manter uma quantidade e qualidade mínimas de exercício diminui o risco de morte, previne o desenvolvimento de certos tipos de câncer, diminui o risco de osteoporose e aumenta a longevidade (GREMEAUX *et al.*, 2012).

Portanto, este capítulo tem como objetivo apresentar as mais recentes descobertas dos efeitos dos programas de exercícios físicos sobre as fronteiras do conhecimento na área.

2. DESENVOLVIMENTO

Apresentar os novos conhecimentos disponíveis sobre o efeito de programas de exercícios físicos sobre a fisiologia, a saúde e o desempenho humano seria uma tarefa impossível num único capítulo. Por isso, se priorizou os tópicos que se destacam por seu ineditismo e importância, como será apresentado a seguir.

2.1 Longevidade e Atividade Física

Um dos fenômenos mais visíveis nas sociedades atuais é o envelhecimento populacional, sendo esse acontecimento denominado transição demográfica. Em conjunto com a transição demográfica, pode-se destacar a transição epidemiológica, que é responsável pelas mudanças nos padrões de morbimortalidade e invalidez da população idosa e que, em geral, está associada a outras transformações, como as sociais, econômicas e de saúde, com a prática regular de atividade física constituindo uma variável importante nesse processo (CORTEZ *et al.*, 2019).

Estamos vivendo mais, mas não necessariamente de forma mais saudável, uma vez que, devido ao envelhecimento biológico natural, que gera alterações e mudanças estruturais ao corpo e a suas funções fisiológicas, quando atrelado a maus hábitos de vida, como sedentarismo e má alimentação,

pode desencadear o aparecimento de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT). Também ocorrem alterações no sistema autoimune, decorrentes do processo de envelhecimento e denominadas imunosenescência, que são caracterizadas pelo aumento da incidência e da gravidade das doenças infecciosas, e pela insuficiente proteção após a vacinação, acarretando elevado número de internações. Esses fatores vêm se destacando como um importante desafio de saúde pública, principalmente pelos efeitos deletérios causados na saúde da população, principalmente entre os idosos, diminuindo sua autonomia funcional, interferindo nos seus hábitos de vida e afetando diretamente sua saúde e qualidade de vida (ROCCA *et al.*, 2014; WHO, 2014).

Nesse cenário, a atividade física regular assume um papel primordial na promoção da saúde, qualidade de vida e longevidade da população, tornando-se uma das nossas ferramentas mais poderosas para a prevenção e para o tratamento das DCNT, uma vez que a atividade física regular melhora os componentes da aptidão física (força muscular, resistência muscular, resistência cardiorrespiratória, flexibilidade e composição corporal), reduzindo o agravamento das DCNT e consequentemente a morbimortalidade entre os idosos.

Existe uma relação significativa entre a prática regular de atividade física e a longevidade entre os idosos, desde que realizada respeitando os princípios do treinamento desportivo e orientada por um profissional de Educação Física devidamente habilitado e qualificado. As recomendações são de que se realize no mínimo 150 a 300 minutos de atividade física de intensidade moderada ou 75 a 150 minutos de atividade física vigorosa, visando gerar adaptações crônicas benéficas à sua saúde (THOMPSON *et al.*, 2003; PIERCY *et al.*, 2018; BURTSCHER *et al.*, 2019).

Em relação aos efeitos crônicos da atividade física e sistema autoimune, evidências científicas ressaltam uma associação positiva entre o nível de atividade física, imunidade, doença e longevidade, com os efeitos sendo inversamente proporcionais quando atrelados ao sedentarismo e maus hábitos de vida. Nesse caso, a participação em sessões regulares de atividade física que fortaleça o sistema cardiovascular, com intensidade de moderada a intensa, com duração de no mínimo 150 minutos semanais, trazem resultados positivos contra distúrbios imunológicos e inflamatórios, bem como contra a morbimortalidade dos idosos (CABANAS-SÁNCHEZ *et al.*, 2018).

Por fim, apesar do crescimento da população idosa ser um fato visível nas sociedades contemporâneas, ainda carecem de mais discussões sobre qual é o “segredo” para a longevidade. Destaca-se a importância de evidências científicas que auxiliem os profissionais de saúde e demais áreas que estudam e trabalham com o envelhecimento na compreensão dos fatores intervenientes da longevidade.

2.2 Imunologia e Exercício

O sistema imunológico tem a função de manter a integridade do funcionamento do corpo humano contra agentes infecciosos e substâncias nocivas advindos do ambiente externo e também para restaurar lesões no corpo de qualquer natureza. Existem barreiras físicas e químicas que impedem a entrada de patógenos no nosso organismo, que é dividido em imunidade inata e imunidade adquirida. A imunidade inata atua agudamente e é mais rápida contra agentes nocivos do que a adaptativa, e é mediada por células que atuam de forma inespecífica – já nascemos com elas.

A imunidade adaptativa, por sua vez, produz uma resposta que é tardia, porém direcionada e mais intensa que a gerada na inata. Esta identifica o agente estranho e desenvolve mecanismos para combatê-lo, e parte do arsenal produzido persistirá após sua destruição, otimizando a ação do sistema imune em encontros futuros (reinfecções pelo mesmo patógeno). Isso cria a memória (via linfócitos T e B) de todos os agentes estranhos que adentram o corpo, para que, em uma próxima invasão, esse sistema possa agir de forma mais eficaz para inibi-lo e destruí-lo.

A relação entre exercício físico e sistema imunológico vem sendo estudada e apresenta resultados interessantes. Segundo alguns autores, há uma dose resposta entre o sistema imunológico e o controle das variáveis do treinamento físico, seja ele aeróbico, resistido ou combinado. O efeito do treinamento físico pode levar à imunossupressão quando em excesso, e a uma ativação do sistema imunológico quando controla-se as cargas adequadamente.

É recomendado, para melhorar o sistema imunológico com o treinamento aeróbico, realizar em média 20 minutos de treinamento, com intensidades leves ou moderadas, contínuo ou intervalado e de 3 a 4 vezes por semana. Para o treinamento resistido, a recomendação é duração inferior a 1 hora, intensidade moderada (40% a 75% de 1RM), intervalos entre as séries de 45 a 90 segundos e exercícios para os grandes grupos musculares. O treino combinado segue as mesmas recomendações do aeróbico e resistido, entretanto, deve-se evitar treinos com duração superior a 1 hora.

Durante a pandemia, alguns estudos mostraram a relação de ser fisicamente ativo com condições melhores do sistema imunológico para enfrentamento da COVID-19. Por exemplo, associa-se a uma redução de 31% do risco de doenças infecciosas adquiridas na comunidade e 37% de risco de redução na mortalidade por doenças infecciosas. Ademais, foi observado aumento da força da barreira imunológica da mucosa (imunoglobulina IgA salivar).

A vacinação é uma das melhores estratégias para combater vírus e bactérias por meio da imunidade adquirida. As diferentes vacinas da COVID-19 foram criadas em menos de um ano após o início da pandemia, e neste ano de 2021, ainda estamos em processo de vacinação da população.

Dessa forma, ainda não houve estudos robustos para apresentar resultados claros sobre o papel do exercício físico e sua ajuda na resposta da vacinação.

Contudo, em um preprint de Gualano *et al.* (2021), os autores apresentaram que pessoas com doença reumática autoimune e fisicamente ativas (>150 min semanais) tiveram melhores respostas com a vacinação contra COVID-19. Além disso, pessoas com >350 minutos semanais de atividades físicas moderadas para vigorosas apresentaram resultados ainda melhores. Corroborando com este achado, Chastin *et al.* (2021), em uma meta-análise, mostraram que pessoas fisicamente ativas, com um mínimo de 20 semanas antes de vacinações contra vírus da H1N1, H3N2, influenza tipo B, pneumocócica e vírus varicela zoster, apresentaram maiores resultados no sistema imunológico em comparação ao grupo controle.

Os mecanismos ligados a respostas de vacinação em pessoas fisicamente ativas ainda não estão claros, mas podemos supor que sejam semelhantes aos que causam as respostas do sistema imunológico com o exercício físico e que pode haver influência em diferentes vacinações. Em conclusão, esta pode não ser a última pandemia que enfrentamos, e além do sistema imunológico, o exercício físico pode diminuir os riscos de mortalidade que enfrentamos com a COVID-19 por influenciar outros fatores, tais como doenças cardiovasculares, metabólicas e obesidade.

2.3 Autofagia e Exercício

Após a descoberta do lisossomo em 1955, que rendeu ao belga Christian de Duve o prêmio Nobel da Medicina e Fisiologia em 1974, o termo autofagia foi proposto pelo pesquisador em um simpósio realizado na cidade de Londres em 1963 (KLYONSKI, 2008). Mais tarde, esse processo voltou a chamar a atenção da comunidade científica através do pesquisador japonês Yoshinori Ohsumi em seus trabalhos sobre o detalhamento do fenômeno em leveduras nas décadas de 1980 e 1990, que o renderam o prêmio Nobel da Medicina e Fisiologia em 2016. O termo, de origem grega, que significa “alimentar-se de si próprio”, é bastante apropriado, uma vez que o processo se exacerba em situações de privação de nutrientes e é ainda mais pronunciado em conjunto com o exercício físico. Com exceção de alguns parasitas, o mecanismo de autofagia parece estar presente na maioria dos eucariontes, que de um ponto de vista evolutivo, denota ser um processo extremamente importante e antigo, acompanhando o desenvolvimento dos metazoários (HURLEY; SCHULMAN, 2014).

A autofagia é um processo altamente dinâmico e pode ser modulado em várias etapas. Em geral, a maior variedade de substratos, incluindo proteínas de longa duração, agregados de proteínas insolúveis e organelas, são degradados como uma forma de reaproveitamento de energia em situações de estresse ou privação de nutrientes (FUQUA *et al.*, 2019). Amplas evidências clínicas e experimentais indicaram um papel emergente para

esse processo de reaproveitamento de energia através da degradação e reciclagem de organelas celulares e substratos (WU *et al.*, 2019). Sabe-se que a autofagia basal é crucial no suporte da massa muscular e morfologia, e quando estimulada pelo exercício, tem efeitos positivos sistemáticos na homeostase da glicose e no perfil metabólico. Há fortes evidências *in vivo* de que a supressão desse mecanismo está associada ao acúmulo de proteínas agregadas tóxicas e atrofia muscular, com base em estudos sobre a deleção específica de genes como o Atg7 e Atg5 (ROCCHI; HE, 2015).

Além da fome como o indutor fisiológico mais conhecido de autofagia, é sabido que o exercício físico estimula potentemente esse processo no músculo esquelético ao interromper o complexo inibitório Beclin-1 e aumentando seus valores basais, necessários para a adaptação desse tecido induzida pelo treinamento (LIRA *et al.*, 2013). Nesse sentido, o exercício físico regular pode ser considerado como uma forma única de estresse fisiológico capaz de desencadear adaptações quanto à autofagia seletiva (WU, *et al.*, 2019). Sabemos que o treinamento desencadeia resultados semelhantes na ativação e expressão autofágica quando comparados a estratégias de ingestão calórica reduzida, como dieta e até jejum (YAN *et al.*, 2017).

Sendo o sistema músculo esquelético o protagonista central do movimento humano, níveis adequados de massa muscular e função contrátil são fortes preditores independentes de prognóstico positivo e taxa de recuperação em pacientes em unidades de terapia intensiva, bem como preditores de autonomia funcional e redução de mortalidade (FUQUA, *et al.*, 2019). Com relação às adaptações musculares, a sinalização de autofagia pode ser um mediador de hipertrofia plausível, porém, ainda incompletamente caracterizado. Também há grande evidência de que o aumento da síntese proteica muscular mediado por um alvo mamífero do complexo-1 de rapamicina (mTORC1) seja um mecanismo chave, mas não o único, pelo qual o treinamento de força promove hipertrofia muscular (WACKERHAGE *et al.*, 2019).

Para o estado alimentado, em oposição ao estado de inanição, a cascata de sinalização fisiológica da insulina intracelular ativa a via mTOR e inibe a autofagia, incluindo a degradação lisossomal de proteínas e organelas. Esses efeitos da insulina são disfuncionais na presença de resistência à insulina, e podem contribuir para a perda muscular acelerada no diabetes. Esse cenário pode levar à degradação da proteína muscular em uma característica diferente dos efeitos da sarcopenia relacionada à idade. Por outro lado, o balanço de conversão da proteína basal, que em grande parte depende da degradação de substratos ubiquitinados, é fundamental para a manutenção da massa e da função muscular.

No entanto, a regulação da degradação da proteína ubiquitinada em músculos esqueléticos saudáveis não atrofiados ainda está em evolução, e os moduladores específicos de tecido em potencial permanecem desconhecidos (WIEDERSTEIN *et al.*, 2018). Essas evidências sugerem que a compreensão

da autofagia, especificamente no músculo esquelético, assumirá um papel central frente às principais doenças crônicas não transmissíveis.

2.4 Exercício Físico e Neurociências

Indivíduos submetidos a um programa de exercícios apresentam menores níveis de cortisol em repouso ou em resposta a um agente estressor quando comparados a sedentários (MELLO *et al.*, 2005). As alterações na atividade do eixo HPA, como maior densidade e eficiência de receptores mineralocorticóides, menores níveis de cortisol e inibição da síntese de cortisol, podem representar mecanismos eficientes de feedback negativo (LAUGERO, 2001).

O exercício crônico tem efeitos antioxidantes, que podem ser explicados pela sinalização mediada por espécies reativas de oxigênio (ROS). Além disso, estudos animais observaram que maiores níveis de ROS ativam a proteína CREB (cAMP response element-binding) e o receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PGC-1 α) no núcleo, induzindo a biogênese mitocondrial. Desse modo, o exercício aeróbico crônico promove um aumento da atividade biogênica mitocondrial (expressão dos fatores de respiração nuclear, NRF-1 e NRF-2, e, em consequência, ativação do fator de transcrição mitocondrial A-TFAM) mediada por antioxidantes (POWERS; TALBERT; ADHIHETTY, 2011).

O exercício agudo promove alterações cerebrais em consequência do aumento no metabolismo, na oxigenação e no fluxo sanguíneo no cérebro, modulando a maioria dos neurotransmissores no sistema nervoso central associados à inibição e à sedação (GABA), estado de alerta (norepinefrina), sistema de recompensa (dopamina) e humor (serotonina) (ENCINAS, 2006). Já a ativação das monoaminas pela atividade física reduz a incidência e aumenta as chances de recuperação de transtornos mentais como depressão, ansiedade e estresse (ENCINAS, 2006). Nesse contexto, é interessante o fato de que agonistas de serotonina, incluindo alguns antidepressivos como a fluoxetina, podem aumentar a gênese celular, enquanto a administração de antagonistas de receptores de serotonina reduz a proliferação celular no giro denteado, uma região do hipocampo associada à potenciação de longo prazo (MAASS *et al.*, 2015). De fato, os efeitos antidepressivos do exercício em humanos têm se mostrado tão potentes quanto o de medicações agonistas de serotonina, aumentando a possibilidade de a neurogênese ser o mecanismo comum terapêutico por trás das melhoras nos sintomas (TONG *et al.*, 2001).

Fatores neurotróficos, proteínas essenciais para sobrevivência, proliferação e maturação neuronal também são ativados e sintetizados durante o exercício agudo. Estudos em animais mostram aumento nos níveis de expressão de diversas neurotrofinas como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), neurotrofina-3 (NT3),

fator de crescimento de fibroblasto (FGF-2), fator neurotrófico derivado da glia (GDNF), fator de crescimento epidérmico (EGF), e fator de crescimento nervoso (NGF) após exercício (COTMAN; BERCHTOLD; CHRISTIE, 2007).

A expressão do gene hipocampal de VEGF em animais adultos resulta em aproximadamente o dobro do número de neurônios no giro denteado e melhoras na cognição (CHEN *et al.*, 2018). Além disso, a infusão periférica de IGF-1 também aumenta a neurogênese no cérebro de animais adultos, além de reverter a redução neuronal relacionada ao envelhecimento. Assim, muitos autores concluem que as alterações vasculares no cérebro em consequência do exercício podem ser mediadas por fatores como o IGF e VEGF (COTMAN; BERCHTOLD; CHRISTIE, 2007).

O aumento da neurogênese hipocampal é um fenômeno robusto e claramente evidenciado (COTMAN; BERCHTOLD; CHRISTIE, 2007). Estudos mostraram, no entanto, que parece não haver produção de novos neurônios ou células gliais em consequência do exercício em outras regiões do cérebro, como, por exemplo, no bulbo olfatório ou zona subventricular (ROCHEFORT *et al.*, 2002). O exercício não só aumenta o número de novos neurônios, mas também influencia a morfologia de neurônios recém-nascidos, sugerindo que os efeitos do exercício nos novos neurônios são quantitativos e qualitativos. Além disso, foram observadas também alterações sinápticas nas mesmas regiões onde ocorreu neurogênese, sugerindo que as novas células têm papel funcional na integração do circuito neural. A neurogênese em consequência do exercício parece estar acompanhada, ainda, de um aumento no tamanho de espinhas dendríticas em áreas do hipocampo de corredores e na proliferação de células da glia (gliogênese) em camadas corticais superficiais, córtex motor e córtex pré-frontal de animais (EHNINGER, 2013).

2.5 Atividades Aeroespaciais e Exercício Físico

Ir ao espaço envolve desafios como a μG , ou seja, aceleração da gravidade inferior aos valores da Terra (*National Aeronautics and Space Administration* – NASA, 2017), a radiação espacial (DOBYNDE *et al.*, 2021), o acesso à alimentação, o confinamento, o isolamento, a distância da Terra e o meio ambiente da nave (NASA, 2021).

A μG tem efeito deletério sobre densidade mineral óssea (DMO), dependente da compressão axial dos ossos (GUYTON; HALL, 2017), sobre estrutura muscular, em função da menor força peso (JONES *et al.*, 2019), e sobre saúde ocular, em função da variação da pressão intracraniana (PATEL *et al.*, 2020).

Calcula-se perda de DMO entre 1 e 1,5%/mês em astronautas em μG por mais que 30 dias. O limite para essa perda de DMO e de massa muscular, o efeito da gravidade fracionária existente na Lua ou Marte e o limite da recuperação na reabilitação pós-missão são desconhecidos (NASA, 2017).

Mas, como treinar ossos e músculos em μG ? Peso, a força mais relevante, mas não a única que atua sobre o corpo humano, é fruto da interação entre campo gravitacional e a massa de um corpo. A II Lei de Newton (Equação 1) enuncia que o vetor força (F) resultante equivale ao produto da massa (m) do corpo pelo vetor aceleração (a). Entendendo-se o Peso (P) como a força de interação do campo gravitacional (g), tem-se a Equação 2, cujo vetor se direciona ao centro de massa dos corpos envolvidos (YOUNG; FREEDMAN, 2015).

$$\text{II Lei de Newton: } \sum \vec{F} = m \cdot \vec{a} \quad (1)$$

$$\text{Força Peso: } P = m \cdot g \quad (2)$$

Assim, observa-se que a μG interfere no Peso e, por conseguinte, no estímulo à DMO e ao músculo. Adicionalmente, qualquer atividade que beneficie a saúde do astronauta deve ser adaptada ao confinamento da nave (PATEL *et al.*, 2020).

Com essas limitações, resistências elásticas são uma opção por independermos do peso, como demonstra a Lei de Hooke, que estabelece força elástica (F_{el}) como o produto da constante elástica (k) de cada material pela variação do comprimento (x) do elástico – conforme a Equação 3 (YOUNG; FREEDMAN, 2015).

$$\text{Lei de Hooke: } F_{el} = k \cdot x \quad (3)$$

Dessa forma, se o exercício com peso é preferencial para promover a hipertrofia muscular e DMO na Terra, em μG deve-se optar por resistências elásticas externas ou internas. Tais exercícios com resistência elástica interna envolvem componentes elásticos do próprio sistema músculo esquelético, sejam eles alinhados em paralelo (CEP) ou em série (CES) com as miofibrilas (BITTENCOURT; MIRANDA; VOIGT, 2018). Para estimular CEP e CES, Conceição (2018) sugere flexionamento, com a execução de arcos de movimento articular superiores aos originais, no limite da distensibilidade dos músculos, ligamentos e tecidos conjuntivos envolvidos.

A Síndrome Neuro-ocular Associada à Viagem Espacial (SANS) também deriva da μG que, ao distribuir uniformemente os líquidos corporais, eleva a pressão intracraniana. SANS pode implicar em perda da acuidade visual, e não se sabe se é irreversível, e não há controle específico, devendo ser monitorizada.

Radiações espaciais envolvem partículas energéticas solares (SEP) e raios cósmicos galácticos (GCR). GCR é inversamente proporcional, e SEP diretamente proporcional à atividade solar, existindo modelos empíricos que calculam suas variações dentro do ciclo solar (DOBYNDE *et al.*, 2021). Patel *et al.* (2020) indica que o malefício dessa exposição dependerá do local e duração da missão, da atividade solar, dos veículos e do ambiente propiciado por trajes e estações. Por isso, Dobynde *et al.* (2021) propuseram um modelo que minimiza exposições à SEP e a GCR, que indicou que a ida a Marte deve ser na máxima atividade solar, com viagem durando menos que 4 anos.

O confinamento e isolamento proporcionados pelo meio ambiente da

nave e pela distância da Terra impede a chegada de provisões e socorro, limitando grandes excursões espaciais (NASA, 2021). Restrições nutricionais implicam em desenvolver alimentos com grande potencial nutritivo e calórico na menor porção possível e necessidade de reaproveitamento maximizado de água. Além disso, a limitação comportamental tem forte componente psicológico, prejudicando performance física e cognitiva. Dada a distância da Terra e atraso na comunicação, o treinamento dos membros da tripulação deve incluir testes que minimizem esses riscos (PATEL *et al.*, 2020).

Além desses apontamentos relacionadas à saúde, tem-se questões relacionadas à ética, ao direito e à organização empresarial que impactam na tomada de decisão nas atividades aeroespaciais, especialmente quando envolve fins comerciais e turísticos (LANGSTON, 2016).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em janeiro de 2016, o governo japonês lançou o 5º Plano Básico de Ciência e Tecnologia, que foi apresentado em 2017 no congresso do *Centrum für Büroautomation, Informationstechnologie und Telekommunikation – CeBIT*, em Hanôver, Alemanha. Nesse plano, se estabelece o paradigma de que o mundo vive atualmente na Sociedade 5.0. A proposta japonesa é criar um novo contrato social e um modelo econômico incorporando totalmente as inovações tecnológicas da quarta revolução industrial (Indústria 4.0), capazes de propiciar a aplicação de diversas tecnologias para o bem-estar das pessoas e suas necessidades.

A sociedade 5.0 se caracteriza pela popularização do emprego da internet nas coisas (IoT), da quantidade massiva de dados (Big Data), da inteligência artificial de 3ª – e mesmo de 4ª geração etc. –, tudo sempre com foco no bem estar humano.

O caminho trilhado pelo exercício físico, voltado para a saúde dentro das fronteiras do conhecimento, tem tido um avanço inegável, dentro dessa perspectiva de inovação acelerada, e, principalmente, em decorrência das modificações sociais e comportamentais acarretadas pela pandemia do COVID-19.

Neste capítulo, apresentamos algumas das mais recentes tendências da evolução do conhecimento na área da motricidade humana, segundo as diretrizes estabelecidas em 2017 pelo *American College of Sports Medicine* e materializada na marca **Exercise is medicine®**, que bem demonstra a importância atribuída ao exercício físico na saúde.

Sejam todos, portanto, muito bem-vindos a esse “Admirável Mundo Novo”.

REFERÊNCIAS

ACSM – American College of Sports Medicine. 2018. Disponível em: <<http://exercisemedicine.org>>. Acesso em: 06 set. 2021.

BITTENCOURT, C. M.; MIRANDA, E.; VOIGT, L. Fatores intervenientes. In: DANTAS, E. H. M. **Alongamento e Flexionamento**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2018. p. 1-39.

BURTSCHER, J. *et al.* The upper limit of cardiorespiratory fitness associated with longevity: an update. **AIMS Public Health**, Springfield, v. 6, n. 3, p. 225-288, 2019.

Cabanas-Sánchez, V., Guallar-Castillón, P., Higuera-Fresnillo, S., García-Esquinas, E., Rodríguez-Artalejo, F., & Martínez-Gómez, D. (2018). Physical activity, sitting time, and mortality from inflammatory diseases in older adults. *Frontiers in physiology*, 9, 898. CAMPOS, J. C. *et al.* Exercise reestablishes autophagic flux and mitochondrial quality control in heart failure. **Autophagy**, [S. l.], v. 13, n. 8, p. 1304-1317, 2017.

CHASTIN, S. F. M. *et al.* Effects of regular physical activity on the immune system, vaccination and risk of community-acquired infectious disease in the general population: systematic review and meta-analysis. **Sports Medicine**, [S. l.], v. 51, n. 8, p. 1-14, 2021.

CHEN, Bai Hui *et al.* Effects of scopolamine and melatonin cotreatment on cognition, neuronal damage, and neurogenesis in the mouse dentate gyrus. **Neurochemical research**, v. 43, n. 3, p. 600-608, 2018

CODELLA, R.; LUZI, L.; TERRUZZI, I. Exercise has the guts: How physical activity may positively modulate gut microbiota in chronic and immune-based diseases. **Digestive and Liver Disease**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 331-341, 2018.

CONCEIÇÃO, M. C. S. C. Formas de Treinamento. In: DANTAS, E. H. M. **Alongamento e Flexionamento**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2018. p. 72-95.

CORTEZ, A. C. L. *et al.* Aspectos gerais sobre a transição demográfica e epidemiológica da população brasileira. **Enfermagem Brasil**, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 700-709, 2019.

COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C.; CHRISTIE, L. A. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. **Trends in Neurosciences**, Cambridge, MA, v. 30, n. 9, p. 464–472, 2007.

DA LUZ SCHEFFER, D.; LATINI, A. Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, [S. l.], v. 1866, n. 10, p. 165823, 2020.

DOBYNDE, M. I. S. *et al.* Beating 1 sievert: optimal radiation shielding of astronauts on a mission to Mars. **Space Weather**, [S. l.], v. 19, n. 9, e2021SW002749, 2021.

EHNINGER, Dan. From genes to cognition in tuberous sclerosis: implications for mTOR inhibitor-based treatment approaches. *Neuropharmacology*, v. 68, p. 97-105,

2013.

ENCINAS, J. M.; VAAHTOKARI, A.; ENIKOLOPOV, G. Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 2006. v. 103, n. 21, p. 8233–8238. Cold Spring Harbor, NY, March 15, 2006.

FRANCAUX, M.; DELDICQUE, L. Exercise and the control of muscle mass in human. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, [S. l.], v. 471, n. 3, p. 397-411, 2019.

FUQUA, J. D. *et al.* ULK2 is essential for degradation of ubiquitinated protein aggregates and homeostasis in skeletal muscle. **FASEB Journal**, [S. l.], v. 33, n. 11, p. 11735-11745, 2019.

GREMEAUX, V. *et al.* Exercise and longevity. **Maturitas**, [S. l.], v. 73, n. 4, p. 312-317, 2012.

GUALANO, B. *et al.* Physical activity associates with enhanced immunogenicity of an inactivated virus vaccine against SARS-CoV-2 in patients with autoimmune rheumatic diseases. Preprint. 2021. Disponível em: <<https://www.researchsquare.com/article/rs-782398/v1>>.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HURLEY, J. H.; SCHULMAN, B. A. Atomistic autophagy: the structures of cellular self-digestion. **Cell**, Cambridge, MA, v. 157, n. 2, p. 300-311, 2014.

JONES, T. W.; PETERSEN, N.; HOWATSON, G. Optimization of exercise countermeasures for human space flight: operational considerations for concurrent strength and aerobic training. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 10, p. 584, 2019.

JONES, Thomas W.; PETERSEN, Nora; HOWATSON, Glyn. Optimization of exercise countermeasures for human space flight: operational considerations for concurrent strength and aerobic training. **Frontiers in physiology**, v. 10, p. 584, 2019.

KLIONSKY, D. J. Autophagy revisited: A conversation with Christian de Duve. **Autophagy**, [S. l.], v. 4, n. 6, p. 740-743, 2008.

LANGSTON, S. M. Space travel: Risk, ethics, and governance in commercial human spaceflight. **New Space**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 83-97, 2016.

LAUGERO, K. D. A new perspective on glucocorticoid feedback: relation to stress, carbohydrate feeding and feeling better. **Journal of Neuroendocrinology**, [S. l.], v. 13, p. 827–835, 2001.

LIRA, V. A. *et al.* Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance. **FASEB Journal**, [S. l.], v. 27,

n. 10, p. 4184-4193, 2013.

MAASS, A. *et al.* Relationship between peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels and exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. **Neuroimage**, [S. l.], v. 131, p. 142-154, 2015b.

NASA's HRP. **Risk of early onset osteoporosis due to space flight**. 2017. 119p.

NASA's Human Research Program – HRP. **5 Hazards of Human Spaceflight**. 2021. Disponível em: <<https://www.nasa.gov/hrp/5-hazards-of-human-spaceflight>>. Acesso: em 27 ago. 2021, 19:43:30.

PATEL, Z. S. *et al.* Red risks for a journey to the red planet: The highest priority human health risks for a mission to Mars. **NPJ: Microgravity**, [S. l.], v. 6, p. 33-46, 2020.

PIERCY, K. L. *et al.* The physical activity guidelines for Americans. **Jama**, [S. l.], v. 320, n. 19, p. 2020-2028, 2018.

POWERS, S. K.; TALBERT, E. E.; ADIHETTY, P. J. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, [S. l.], v. 589, p. 2129-2138, 2011.

ROCCA, W. A. *et al.* Prevalence of multimorbidity in a geographically defined American population: patterns by age, sex, and race/ethnicity. **Mayo Clinic Proceedings**, Rochester, v. 89, n. 10, p. 1336-1349, 2014.

ROCCHI, A.; HE, C. Emerging roles of autophagy in metabolism and metabolic disorders. **Frontiers in Biology**, [S. l.], v. 10, p. 154–164, 2015.

ROCHEFORT, C. *et al.* Enriched odor exposure increases the number of newborn neurons in the adult olfactory bulb and improves odor memory. **Journal of Neuroscience**, Washington, DC, v. 22, p. 2679–2689, 2002.

THOMPSON, P. D. *et al.* Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity) Circulation. **Circulation**, Dallas, v. 107, n. 24, p. 3109–3116, 2003.

TONG, L. *et al.* Effects of exercise on gene-expression profile in the rat hippocampus. **Neurobiology of Disease**, [S. l.], v. 8, p. 1046–105, 2001.

WACKERHAGE, H. *et al.* Stimuli and sensors that initiate skeletal muscle hypertrophy following resistance exercise. **Journal of Applied Physiology**, Rockville, v. 126, n. 1, p. 30-43, 2019.

WHO – World Health Organization (2014). **Global status report on noncommunicable diseases 2014**. No. WHO/NMH/NVI/15.1. 2014. Geneva: World Health Organization.

WIEDERSTEIN, Janica Lea *et al.* Skeletal muscle-specific methyltransferase METTL21C trimethylates p97 and regulates autophagy-associated protein breakdown. **Cell reports**, v. 23, n. 5, p. 1342-1356, 2018.

WU, N. N. *et al.* Physical Exercise and Selective Autophagy: Benefit and Risk on Cardiovascular Health. **Cells**, Basel, v. 8, n. 11, p. 1436, 2019.

YAN, Z. *et al.* Exercise leads to unfavourable cardiac remodelling and enhanced metabolic homeostasis in obese mice with cardiac and skeletal muscle autophagy deficiency. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 7894, 2017.

YOUNG, H. D.; FREEDMAN, R. A. **Sears & Zemansky**: Física I – Mecânica. 14. ed. Pearson, 2015.

FRONTIERS OF KNOWLEDGE IN PHYSICAL EXERCISE

ABSTRACT - Regular physical activity plays a key role in promoting the population's health, quality of life and longevity. Studies indicate a significant relationship between regular physical activity and longevity among the elderly. Furthermore, it is known that the effect of physical activity can lead to immunosuppression, when in excess, and an activation of the immune system when loads are adequately controlled, and during the pandemic, some studies showed the relationship of being physically active with better conditions of the immune system for coping with COVID-19. We also know that, being practiced regularly, physical practice can be considered a unique form of physiological stress capable of triggering adaptations regarding selective autophagy. In microgravity (μ G) exercise with external or internal elastic resistance is recommended so that there is less compromise in bone mineral density. Furthermore, the effect of exercise on the brain is unique in that it improves brain health and cognitive functions through the reduction of peripheral risk factors for cognitive decline in addition to direct action through numerous neurochemical changes. Even with all the benefits of physical exercise not being fully elucidated, it has broken barriers within the borders of knowledge through significant innovations, both related to issues that concern everyday life, and our new reality that translates into changes resulting from social and behavioral changes brought about by the COVID-19 pandemic.

KEYWORDS: Exercise; Longevity; Immunohistochemistry; Macroautophagy; Space Flight; Physical Fitness. (MeSH/DeCS).

The background of the slide features a grayscale photograph of a doctor. The top half shows the doctor's white coat and a stethoscope draped around their neck. The bottom half shows a close-up of the doctor's hand holding the stethoscope and their wrist, which is wearing a round analog watch with a white face and a dark leather strap. The text is overlaid on a green horizontal band across the middle of the image.

ÁREA CLÍNICA: CIRURGIA

SEÇÃO 2

CIRURGIA DA FIBRILAÇÃO ATRIAL CRÔNICA COM ULTRASSOM EM PACIENTES COM LESÃO VALVAR MITRAL: PARTE I

Alexandre Visconti Brick

lattes.cnpq.br/8553187430503585

Faculdade de Medicina de Brasília
(UNB)

Domingo Marcolino Braile – *in memoriam*

lattes.cnpq.br/0145375616627760

Faculdade de Medicina de São José
do Rio Preto (FAMERP)

Faculdade de Medicina da
Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP)

RESUMO - Objetivo: Avaliar tratamento cirúrgico da FAC com US em pacientes com lesão valvar mitral, considerando-se caracterização clínica pré-operatória e acompanhamento desses pacientes no pós-operatório imediato, na alta hospitalar e tardio até 60 meses. Métodos: Foram estudados 100 pacientes portadores de FAC e lesão valvar mitral submetidos a tratamento cirúrgico por meio de ablação com US. Dados foram obtidos em prontuários, incluindo sinais e sintomas, doença de base, classe funcional, tempo de permanência hospitalar, tempo de procedimento cirúrgico, tempo de ablação, complicações imediatas,

alta hospitalar e tardias até 60 meses. Foi utilizada curva atuarial (Kaplan-Meier) para estudo da permanência sem recidiva após 12, 24, 36, 48 e até 60 meses em pacientes com FAC. Resultados: 86% tinham doença valvar mitral reumática, 14% degeneração mitral, 40% eram portadores de insuficiência mitral e 36% estenose mitral. Principais sintomas incluíram palpitações (70%), insuficiência cardíaca congestiva (70%) e episódio prévio de edema agudo de pulmão (27%). Resultados imediatos mostraram que 94% dos pacientes submetidos à ablação com US reverteram o ritmo de FAC, 86% em ritmo sinusal e 8% em bloqueio atrioventricular. Na alta hospitalar observou-se manutenção do ritmo sinusal em 86 pacientes e recidiva da FAC em 8. No acompanhamento, após 60 meses, 83,8% dos pacientes mantinham o ritmo sinusal. Conclusão: O tratamento cirúrgico da FAC com US concomitante e a cirurgia valvar mitral é factível e satisfatório, com manutenção do ritmo sinusal na maioria dos pacientes (83,8%), após 60 meses de seguimento.

PALAVRAS-CHAVE: Fibrilação atrial; Arritmias; Técnicas de ablação; Ultrassom; Procedimentos de cirurgia

cardíaca; valvopatia mitral

1. INTRODUÇÃO

A descrição mais antiga da fibrilação atrial (FA) é a do médico do imperador, 1696 a 1598 a.C., na China, retirado da obra *The Yellow Emperor's Classic of Internal Medicine*.⁽¹⁾

O primeiro a se interessar pela arritmia foi William Harvey, em 1628, em seu livro *De Moto Cordis*, observando em animais que os batimentos se originavam nas aurículas, principalmente a direita, indo o sangue das aurículas para os ventrículos.⁽²⁾ Harvey observou irregularidade e ineficácia das contrações auriculares antes da morte do animal e essa é, talvez, a primeira observação de que hoje se conhece como FA.⁽²⁾

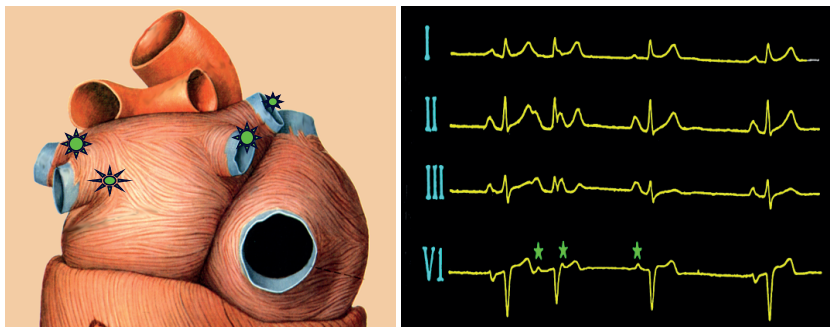
Jean-Baptiste de Sénac, em 1819, descreveu *pulsus irregularis perpetuus*, atualmente conhecida como FA paroxística, e associou a lesão da valva mitral à arritmia.⁽²⁾ Suas observações foram confirmadas por Adams em 1827, e Hope em 1839.⁽³⁾ No início do século XX, os primeiros relatos de Lewis já relacionavam FA com doença mitral reumática.⁽⁴⁾

A FA é a mais comum e a mais complexa arritmia supraventricular, caracterizada pela perda da contração atrial, seu diagnóstico é facilmente realizado pelas manifestações clínicas, ausculta cardíaca e eletrocardiograma. O mecanismo eletrofisiológico da FA baseia-se na formação de múltiplos circuitos de reentrada, cujo comprimento anatômico precisa ser igual ou maior que o comprimento da onda de ativação normal, dentro do período refratário, dependendo da quantidade de tecido disponível para a formação e perpetuação do circuito de reentrada. Quanto maior o átrio maior a possibilidade de aparecimento e manutenção da arritmia.⁽⁵⁻⁸⁾

A FA é a mais comum arritmia sustentada, sendo ocasionada pela formação de reentradas com padrão variável, presentes no miocárdio atrial, causando deterioração da coordenação da ativação elétrica atrial com consequente perda da contração atrial.^(6,7,9)

A teoria mais aceita para explicar mecanismos eletrofisiológicos para manutenção da FA é de ondas múltiplas, conforme descritas por Moe⁽¹⁰⁾ e confirmada por Allesie *et al.*,⁽⁷⁾ (Figura 1). Técnicas desenvolvidas ao longo dos anos e os estudos de mapeamento eletrofisiológico possibilitaram melhor conhecimento dessa arritmia. O mapeamento endocavitário mostrou que os focos que provocam a FA se localizam nas veias pulmonares.⁽⁹⁾

Figura 1: Desenho esquemático mostrando eletrofisiopatogênese da FA com ondas múltiplas originando-se nas veias pulmonares



Fonte: Google Imagens

As manifestações clínicas da FA são verificadas por meio de: 1) ritmo cardíaco irregular, causando desconforto e ansiedade; 2) falha no sincronismo da contração atrioventricular, com alteração no enchimento e ejeção ventricular, causando comprometimento hemodinâmico que resulta em quadros que vão desde dispneia até graus variáveis de insuficiência cardíaca; e 3) estase do fluxo sanguíneo nos átrios, favorecendo a formação de trombos, sendo causa frequente de episódios tromboembólicos.⁽¹¹⁾

A prevalência da FA é estimada em 0,4% na população em geral, aumentando proporcionalmente com a idade, sendo menor que 1% abaixo dos 60 anos e maior que 6% acima dos 80 anos. Em relação ao sexo, é maior nos homens.⁽¹²⁻¹⁶⁾ Estudos prospectivos demonstraram incidência menor que 0,1% por ano em indivíduos abaixo dos 40 anos, para maior que 1,5% por ano em mulheres acima dos 80 anos e maior que 2% por ano em homens acima dos 80 anos.⁽¹⁷⁻²⁰⁾

A ocorrência de FA pode estar associada a outras doenças cardiopulmonares, como: doença valvar, principalmente no acometimento da valva mitral, doença arterial coronária, hipertensão arterial sistêmica, miocardiopatia dilatada, miocardiopatia hipertrófica, cardiopatia congênita, tumores cardíacos, doença do nó sinusal, taquicardias supraventriculares, síndrome de Wolff-Parkinson-White e dupla via nodal.⁽²¹⁾ Pode ser de origem neurogênica, desencadeada pelo sistema nervoso autonômico, decorrente de estimulação vagal ou elevação do tônus adrenérgico,⁽²²⁾ ou até mesmo aparecer isoladamente, sem causa aparente ou com caráter familiar.^(23,24)

Existem várias denominações para classificar FA a saber: aguda, crônica, paroxística, intermitente, constante, persistente e permanente. Segundo Fuster *et al.*⁽²⁵⁾ quando a FA se mantém, persiste por mais de um ano ou, ainda, é mantida a partir do primeiro episódio, é denominada crônica.

Dentre as arritmias supraventriculares, a FA é a que apresenta maior

risco de morbidade e mortalidade, despertando grande interesse para seu tratamento. A terapêutica medicamentosa tem como principal finalidade a conversão para o ritmo sinusal, com utilização de antiarrítmicos; no entanto, a recorrência é comum. Com a manutenção da FA, outro objetivo seria o controle da frequência cardíaca, com diminuição da resposta ventricular, proporcionando equilíbrio hemodinâmico.⁽²⁶⁻²⁸⁾ Antiagregante plaquetário e anticoagulante oral podem ser utilizados para prevenir episódios tromboembólicos, evitando a formação de trombos nas cavidades atriais.⁽²⁹⁻³³⁾

O tratamento não-farmacológico da FA inclui: 1) cardioversão elétrica, com elevado índice de recorrência;^(34,35) 2) técnicas como a crioablação transoperatória do feixe de His e da junção atrioventricular;⁽³⁶⁾ 3) isolamento do átrio esquerdo;⁽³⁷⁾ 4) ablação por cateter da junção atrioventricular e implante de marca-passo definitivo;⁽³⁸⁾ 5) ablação por cateter do feixe de His e implante de marca-passo definitivo;⁽³⁹⁾ e 6) “operação do Corredor”.^(40,41)

Esses procedimentos, embora regularizem o ritmo cardíaco, mantêm os átrios, ou parte deles, fibrilando, não eliminando o risco de complicações como o comprometimento hemodinâmico e a ocorrência de episódios tromboembólicos.

A primeira intervenção para controlar a FA, refratária ao tratamento clínico, com ablação por cateter da junção atrioventricular, usando choque de desfibriladores com corrente direta, foi descrita em 1982 por Gallagher *et al.*,⁽³⁹⁾ Essa técnica era eficaz para produzir bloqueio completo e irreversível, com necessidade de implante de marca-passo definitivo. Controlava a frequência, mas não corrigia os problemas associados à perda da contração atrial e o risco de tromboembolismo.

Estudos de mapeamento eletrofisiológico com sistema de eletrodos computadorizados foram realizados por Cox *et al.*,⁽⁴²⁻⁴⁵⁾ e foi desenvolvida a técnica operatória conhecida como cirurgia do labirinto, que consiste na realização de incisões e suturas da parede atrial, propiciando a propagação do estímulo elétrico nos átrios dentro de um verdadeiro labirinto, ordenando o batimento atrial.^(46,47)

O procedimento do labirinto (Cox I) empregava secção e sutura, mais crioablação e tinha por objetivo corrigir todas as consequências deletérias da FA. Desde sua aplicação inicial vem sendo modificado, visando corrigir as irregularidades dos batimentos, permitir o sincronismo atrioventricular e reduzir o risco do tromboembolismo.

Essa técnica apresentava, no pós-operatório, alteração da contração atrial e resposta cronotrópica inadequada, sendo introduzidas modificações nas incisões atriais que resultaram na descrição da “Operação de Cox II”,⁽⁴⁵⁾ que teve pouca aplicação clínica. Posteriormente, novas modificações foram realizadas, evoluindo-se para “Operação de Cox III”, que propiciava o retorno do ritmo sinusal.^(48,49) Foram publicados trabalhos relatando o sucesso dessa técnica, considerada padrão de referência para o tratamento operatório da

FA, ^(45,50,51) principalmente em portadores de doença valvar mitral. ⁽⁵²⁻⁵⁵⁾

A ampla dissecação das estruturas cardíacas e a realização de extensas linhas de secção e sutura da parede atrial, porém, aumentavam consideravelmente o tempo operatório, assim como o tempo de circulação extracorpórea (CEC) e de clampeamento aórtico, elevando a morbidade pós-operatória, dificultando a ampla aplicação do procedimento.

A aplicabilidade de técnicas operatórias é inversamente proporcional a sua complexidade. Com o intuito de reduzir a complexidade da “Operação de Cox”, várias modificações técnicas foram introduzidas: 1) modificações nas localizações das incisões atriais;^(56,57) 2) redução das linhas de secção e sutura da parede atrial, conhecida como “Mini Cox”;^(58,59) e 3) procedimento unilateral, somente no átrio esquerdo, chamado “Cox à Esquerda”.⁽⁶⁰⁾

2. MÉTODO

2.1 Casuística

Foram estudados retrospectivamente e de forma consecutiva 100 pacientes portadores de FAC e lesão valvar mitral com indicação para tratamento cirúrgico, independente de raça, provenientes de várias regiões do país, com idade entre 18 e 70 anos ($43,56 \pm 4,94$ anos), sendo 63 (63%) do sexo feminino e 37 (37%) do masculino (Apêndice 1).

Os pacientes foram operados pelo autor no período de 1999 a 2004, sendo tratados cirurgicamente por meio de ablação com US. Todos os pacientes foram atendidos no Hospital das Forças Armadas e no Hospital Brasília, situados em Brasília/DF (Anexos 1 e 2).

Foram considerados critérios de exclusão: gestantes; menores de 16 anos; pacientes com FA que não fosse considerada crônica associada ou não a doença valvar; portadores de doenças coronarianas, congênitas e vasculares; transplantados ou com indicação para transplante cardíaco; pacientes submetidos a 2 reoperações da valva mitral, e portadores de outras valvopatias isoladas ou associadas (exceto doença da valva tricúspide).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP) (Anexo 3).

2.2 Método

Dados dos pacientes foram revisados prospectivamente por meio de consulta a fichas de controle, incluindo variáveis demográficas (sexo e idade), enquanto as variáveis cardíacas incluíram quadro clínico (sinais e sintomas), doença de base, classe funcional, tempo de permanência hospitalar (dias), tempo de procedimento cirúrgico (minutos), tempo de ablação (minutos), complicações intra e pós-operatórias (imediato, alta hospitalar e tardio até 60 meses).

Todos os pacientes tinham indicação para plastia ou troca valvar mitral, em alguns casos para plastia tricúspide, e correção da FAC.

Foram realizados exames complementares eletrocardiograma (ECG), Holter, ecocardiograma bidimensional com Doppler a cores; radiologia de tórax e cateterismo cardíaco, com a finalidade de avaliar as valvas cardíacas, presença de trombos intracavitários, tamanho do átrio esquerdo, função ventricular, medida das pressões em câmara cardíacas, pressão da arterial pulmonar e avaliação das artérias coronárias.

2.2.1 Avaliação pré-operatória

Os pacientes foram internados para realização de exames pré-operatórios de rotina, já com os exames cardiológicos previamente realizados. Na véspera da cirurgia, foram também examinados pelo anestesiológico, avaliando as funções respiratória e cardiovascular, bem como o grau de ansiedade e o conhecimento sobre a doença.

Após o primeiro contato de apresentação, passou-se a avaliar tanto a história prévia quanto a doença atual: generalidades, anestésicos anteriores, saúde familiar e experiência anestésica, uso atual de drogas, alergias (transfusão sanguínea – religião), abuso e vício de drogas.

No exame físico, foram avaliadas alterações nas vias aéreas, dentárias, exame do tórax, abdome, membros inferiores e coluna e foi pesquisado o melhor acesso venoso.

Foi feita ausculta pulmonar e cardíaca, à procura de alterações que pudessem significar descompensação cardiorespiratória, apalpação abdominal dirigida ao fígado e também avaliado o grau de consciência e sequelas neurológicas prévias.

Após a avaliação clínica, foram realizados exames laboratoriais de rotina: hematologia, bioquímica, eletrólitos, sorologias, enzimas, urina, provas de função pulmonar, ecocardiografia, cineangiocoronariografia, avaliação da fisioterapia e medicação em uso no momento.

Os pacientes foram informados sobre todos os procedimentos a que seriam submetidos. Como medicação pré-anestésica, foi utilizado benzodiazepínico via oral, diazepam 10 mg, na véspera, e 10 mg duas horas antes da cirurgia. Os pacientes foram avaliados quanto à altura e peso para cálculo da superfície corpórea e orientados por fisioterapeuta, que os acompanhou no pré e pós-operatório.

2.2.2 Procedimentos operatórios

Os pacientes foram levados ao centro cirúrgico e colocados em decúbito dorsal horizontal, na mesa operatória. A monitorização foi feita com a colocação de 5 eletrodos, no dorso, para controle do ritmo e da frequência cardíaca. Em seguida, foi feita instalação de monitor de pressão arterial não

invasivo e oxímetro de pulso. Foi feita punção venosa, com agulha descartável número 27, ponta tipo Quinque, para administração de morfina (250 a 500 mcg) e sufentanil (30 a 50 mcg).

A anestesia geral foi induzida, com diazepam 0,2 a 0,3 mg/kg, fentanil 10 mcg/kg e pancurônio 0,1 mg/kg. Foi realizada a tubagem orotraquel, com tubo plástico, com balonete de alto volume e baixa pressão, sistema de anestesia circular, com absorção parcial de dióxido de carbono. Concomitantemente, foram puncionadas a veia subclávia, com cateter de dupla via e a artéria radial com cateter 18. O cateter intravenoso central serviu para controle contínuo da pressão venosa em coluna de água e para infusão de líquidos e medicamentos. O cateter na artéria radial foi conectado ao monitor de pressão arterial invasiva, que serviu para controle da pressão arterial média (PAM) e coleta de amostra de sangue para dosagens laboratoriais. Foi realizada sondagem vesical para controle do fluxo urinário. Os pacientes, além de monitor habitual, foram conectados ao registrador de ECG para documentação do ritmo, durante todo o procedimento de ablação.

A manutenção da anestesia foi assegurada com halotano em oxigênio. Picos hipertensivos, com PAM superior a 100 mmHg, foram tratados com droperidol 200 mcg/kg ou infusão contínua em bomba de nitroprussiato de sódio. Quando da colocação em CEC, foi administrada a metade da dose do relaxante muscular e o grau de consciência foi avaliado pelo monitoramento da pupila.

Os pacientes foram transportados à unidade de terapia intensiva com respiração controlada com oxigênio, em respirador para transporte e monitorados com oxímetro de pulso e pressão arterial invasiva.

2.2.3 Técnica operatória

Foi feita a assepsia na região anterior do pescoço, tórax e abdome. Em seguida, foram colocados campos cirúrgicos para delimitar a área operatória. Realizou-se esternotomia mediana, abaixo da fúrcula esternal, até próximo do apêndice xifoide, abrangendo pele e tecido celular subcutâneo. O esterno foi serrado, longitudinalmente, na sua porção mediana, com serra vibratória. A hemostasia foi realizada com termocautério, sendo fixados campos secundários, delimitando a ferida. O esterno foi afastado e, em seguida, realizada a pericardiotomia longitudinal, fixando suas bordas nos campos operatórios.

As cavas foram dissecadas e laçadas com fita cardíaca, e foram realizadas bolsas para canulação venosa, com fio de polipropileno 3-0. Estas foram realizadas, nas veias cavas, o mais distalmente possível dos átrios, para facilitar o acesso aos orifícios das veias cavas, durante o procedimento de ablação.

Foi realizada bolsa dupla na aorta, com fios de polipropileno 3-0, para introdução da cânula, para retorno do sangue arterial durante a CEC.

Os pacientes foram anticoagulados com heparina, dosagem de 4 mg/kg de peso corpóreo, com controle do tempo de coagulação ativada, durante o procedimento, mantendo-o acima de 480 segundos.

Para CEC, foi utilizado sistema coração-pulmão-artificial Braille Biomédica® (São José do Rio Preto, SP), com bomba arterial de roletes, reservatório de cardiostomia, oxigenador de membrana e hemoconcentrador para ultrafiltração durante e após procedimento. O perfusato utilizado foi solução de ringer adicionado a bicarbonato de sódio e cloreto de potássio para correção quando necessária, de acordo com as dosagens laboratoriais. Foi adicionado antibiótico cefalosporina 1g (cefalotina) além de manitol a 20% na proporção de 1g/kg de peso do paciente.

A proteção miocárdica foi realizada com hipotermia moderada (33°C) e solução cardioplégica tipo St. Thomas, infundida na aorta, após pinçamento da mesma, somente para abordagem da valva mitral. Na abordagem do átrio direito, a correção da valva tricúspide e ablação atrial foram realizadas sem parada anóxica.

2.2.4 Técnica operatória para ablação

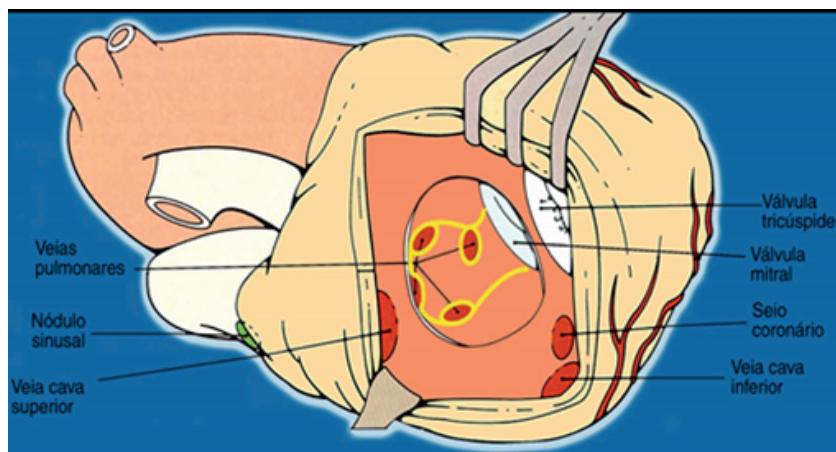
Para a realização das linhas de ablação transoperatória foi utilizado US conforme Brick *et al.*,⁽⁷⁰⁾ com bisturi harmônico *UltraCision®*, marca registrada de Ethicon Endo Surgery, Divisão de Johnson & Johnson Produtos Profissionais (São Paulo, SP). Esse dispositivo ultra-sônico projetado para cortar e coagular tecidos sem utilização de corrente elétrica é ativado por US numa frequência de 55,5 kHz, com 5 níveis de potência, sendo composto de um gerador, peça de mão e diversos tipos de acessórios.

2.2.5 Procedimentos no átrio esquerdo

Após a parada anóxica, pelo clampeamento da aorta, foi efetuada a atriotomia esquerda, longitudinal. As linhas de ablação foram feitas em forma de U invertido, envolvendo as quatro veias pulmonares, iniciando e terminando no anel fibroso do coração em direção à valva mitral (Figuras 2 a 5).

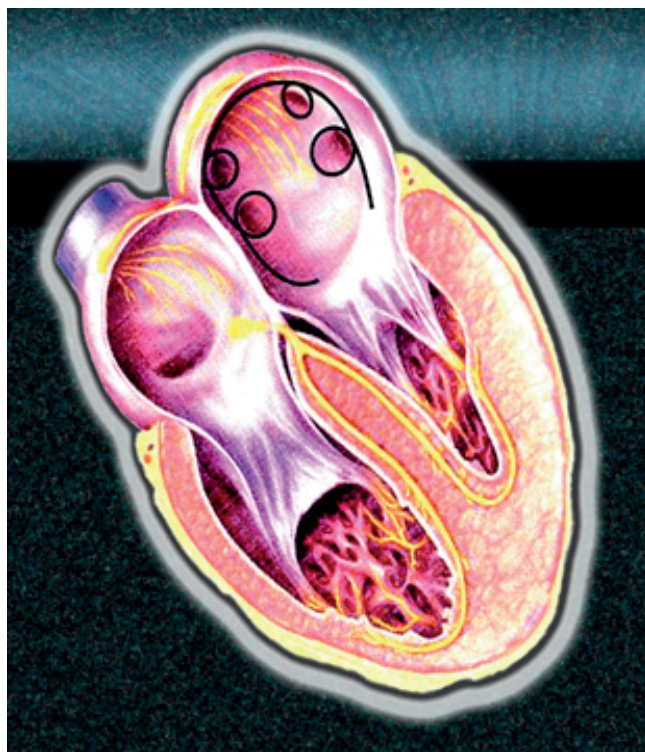
Nos pacientes que apresentavam trombos no átrio e aurícula esquerda, foi realizada trombectomia antes da ablação. Após realização das linhas de ablação, foram feitos procedimentos de rotina para tratamento da doença mitral com troca ou plastia.

Figura 2: Desenho esquemático das linhas de ablação no átrio esquerdo



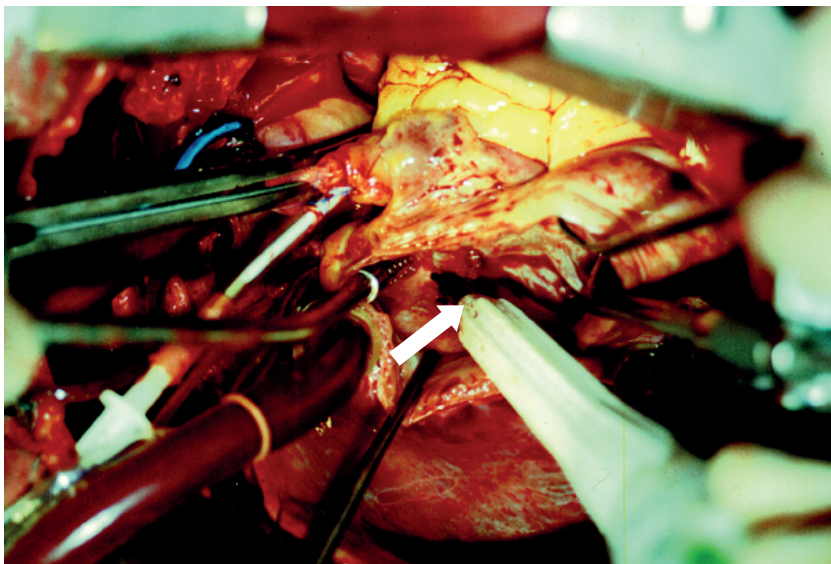
Fonte: Google Imagens

Figura 3: Desenho esquemático das linhas de ablação com ultrassom no átrio esquerdo ao redor das veias pulmonares



Fonte: Google Imagens

Figura 4: Fotografia mostrando ablação no átrio esquerdo com bisturi de ultrassom



A Figura 5 mostra sequências de ECG registradas durante o procedimento de ablação com US.

Figura 5: Eletrocardiograma antes da ablação da FA (A) e após realização de ablação no átrio esquerdo (B)

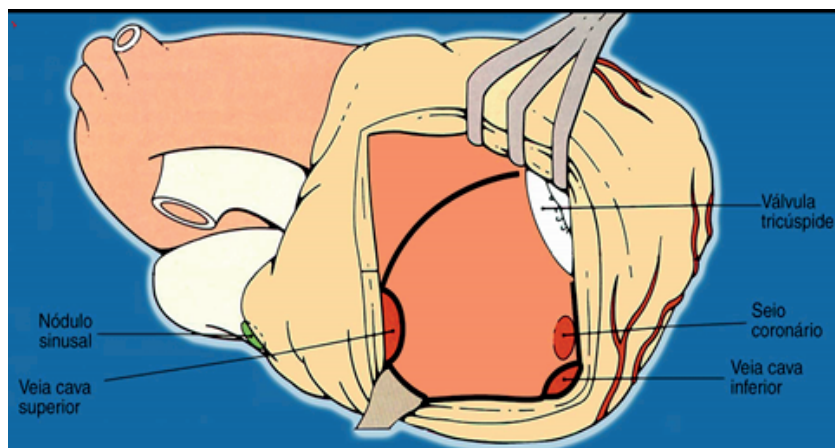


2.2.6 Procedimentos no átrio direito

No átrio direito, após abertura longitudinal com o coração batendo, foram realizadas ablações lineares no septo interatrial: 1- ao redor da veia

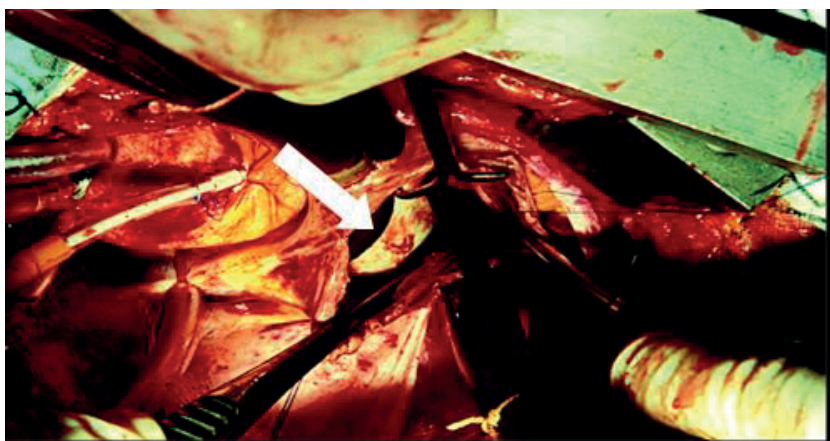
cava superior até ao redor da veia cava inferior; 2- da veia cava inferior até a borda inferior do anel da válvula tricúspide, passando próximo ao orifício do seio coronário e, 3- da veia cava superior até a porção superior do anel tricúspide, tomando o cuidado com o nódulo atrioventricular (Figuras 6 e 7).

Figura 6: Desenho esquemático mostrando linhas de ablação no átrio direito



Fonte: Google Imagens

Figura 7: Fotografia mostrando lesão no átrio direito produzida por ablação com bisturi de ultrassom



2.2.7 Pós-operatório imediato

Para estabilização e remodelação atrial, utilizou-se verapamil (120

mg/dia) e ou amiodarona (200 mg/dia), no primeiro dia de pós-operatório. O objetivo foi manter a profilaxia antiarrítmica continuada, devendo permanecer por 6 meses nas doses propostas. A Figura 8 mostra sequência de ECG registrado ao final do procedimento cirúrgico.

Figura 8: Eletrocardiograma ao final da troca valvar em ritmo sinusal



2.2.8 Análise estatística

Os dados foram analisados por meio de cálculos de estatística descritiva (média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo). Foi utilizada a curva atuarial (Kaplan-Meier) para estudo da permanência sem recidiva após 12, 24, 36, 48 e até 60 meses em pacientes com FAC com intervalo de confiança 95%. A curva atuarial (Kaplan-Meier) foi feita com auxílio do programa estatístico Cálculos Estatísticos for Windows V.1.8.

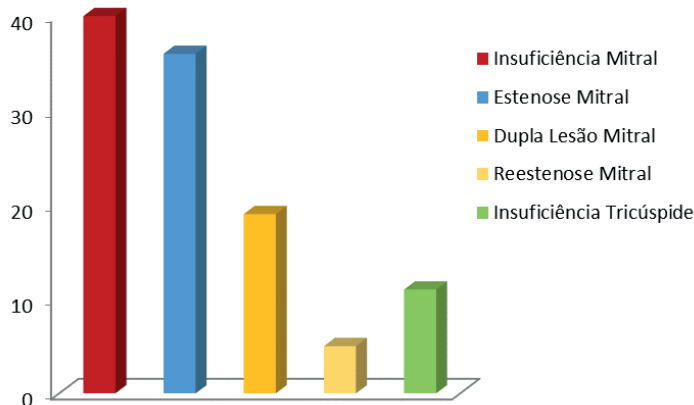
3 RESULTADOS

3.1 Caracterização Clínica Pré-operatória

Do total de pacientes estudados, 86% tinham doença mitral reumática e 14% degeneração da valva mitral.

A análise das doenças valvares mostrou que 40% dos pacientes eram portadores de insuficiência mitral, 19% de dupla lesão mitral, 36% de estenose mitral e 5% de reestenose mitral (Figura 9). Além da valvopatia mitral, 11% dos pacientes apresentavam, de forma associada, insuficiência da valva tricúspide, que também foi corrigida com plastia durante o procedimento.

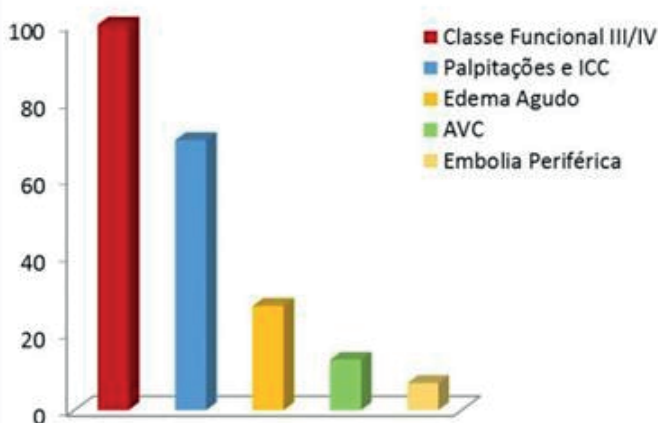
Figura 9: Distribuição percentual de doenças valvares em pacientes com fibrilação atrial crônica



Os principais sintomas incluíram palpitações relacionadas à taquicardia pela FAC (70%), insuficiência cardíaca congestiva (70%), episódio prévio de edema agudo de pulmão (27%), acidente vascular cerebral (AVC) por tromboembolismo (13%) e embolia periférica (7%); esses pacientes necessitaram de embolectomia com cateter de Fogarty (Figura 10).

A classe funcional dos pacientes segundo *New York Heart Association* (NYHA) foi III/IV e o tamanho médio do átrio esquerdo medido no ecocardiograma foi aproximadamente 60 mm.

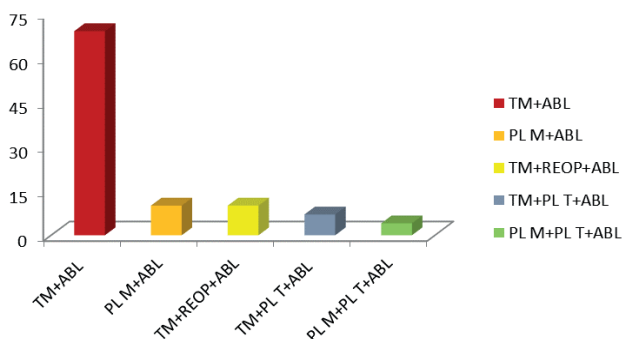
Figura 10: Distribuição percentual de sintomas e classe funcional em pacientes com fibrilação atrial crônica



3.2 Resultados Operatórios

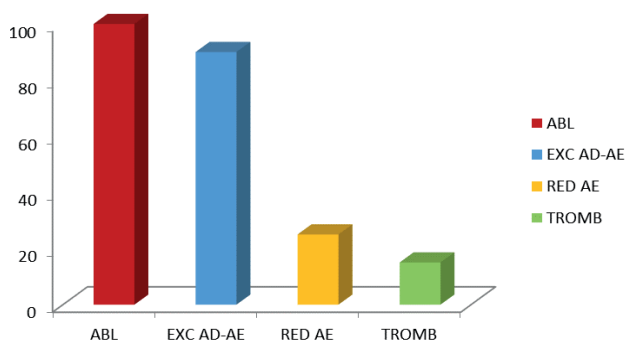
As operações realizadas concomitantemente com a ablação incluíram substituição da valva mitral por bioprótese de pericárdio bovino Braile Biomédica® (São José do Rio Preto, SP) (69%), plastia mitral (10%), reoperação com troca valvar (10%) e associada à plastia tricúspide (11%) (Figura 11).

Figura 11: Operações realizadas concomitantemente com a ablação TM: troca mitral; PLM: plastia mitral; REOP: reoperação; PLT: plastia tricúspide; ABL: ablação



Além da ablação com US em todos os pacientes, procedimentos complementares à cirurgia incluíram exclusão das aurículas direita e esquerda (90%), redução do tamanho do átrio esquerdo por ressecção e/ou plicatura da parede do átrio esquerdo (25%) e trombectomia (15%) (Figura 12).

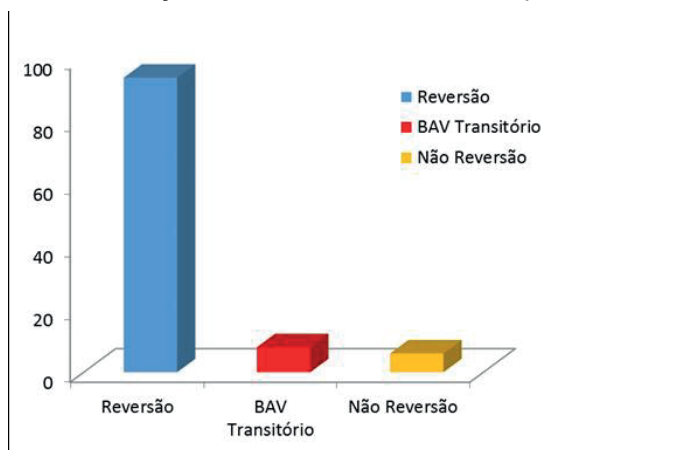
Figura 12: Procedimentos complementares à cirurgia ablação com ultrassom. ABL = ablação, EXC AD-AE = exclusão das aurículas direita e esquerda; RED AE = redução do átrio esquerdo; TROMB = trombectomia



3.3 Resultados no Pós-operatório Imediato

Os resultados imediatos mostraram que 94% dos pacientes submetidos à ablação com US reverteram o ritmo de FAC, sendo 86% em ritmo sinusal e 8% em bloqueio atrioventricular, que foi transitório. Em 6% dos pacientes não houve sucesso, sendo 4 reoperações e ou apresentavam o átrio esquerdo com fibrose intensa provocada por febre reumática e ou calcificado (Figura 13).

Figura 13: Resultados obtidos no pós-operatório imediato por pacientes submetidos à ablação com ultrassom. BAV = bloqueio atrioventricular.



Ao término do procedimento e final da CEC, 96% dos pacientes mantiveram débito cardíaco adequado, mesmo quando não reverteram a FAC. Não houve reoperação por sangramento no pós-operatório imediato.

Em um paciente houve lesão da parede do átrio esquerdo pelo bisturi de US, corrigida com sutura pelo interior do átrio esquerdo.

O tempo mediano de operação foi 142 minutos e o de parada anóxica de 45 minutos. Os tempos para realização das linhas de ablação foram 12,5 e 14 minutos para os átrios direito e esquerdo, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1: Resultados obtidos quanto à mediana dos tempos (em minutos) no tratamento cirúrgico de pacientes com fibrilação atrial crônica e valvopatia mitral

Tempo de Cirurgia	Tempo de CEC	Tempo de parada	Tempo de Ablação	
			AD	AE
142	72,5	45	12,5	14,0
120-210	45-100	20-70	10-13	11-14

CEC: circulação extracorpórea; AD: átrio direito; AE: átrio esquerdo

3.4 Resultados na Alta Hospitalar

Analisando os resultados na ocasião da alta hospitalar, foi observada manutenção do ritmo sinusal em 86% dos pacientes e recidiva da FAC em 8%. O tempo de permanência hospitalar variou de 5 a 12 dias, sendo a média de 6,6 dias.

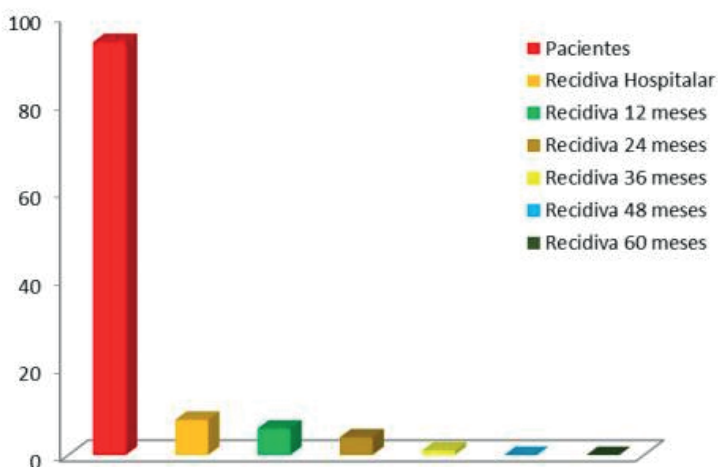
Foram registrados 4 óbitos hospitalares, sendo que 2 pacientes submetidos à reoperação por reestenose mitral calcificada tiveram insuficiência respiratória no pós-operatório, e 2 que apresentavam no pré-operatório classe funcional IV e episódio de edema agudo, evoluíram com síndrome de baixo débito e insuficiência cardíaca de difícil controle. Esses 4 pacientes tiveram FA no pós-operatório imediato. Um paciente apresentou deiscência do esterno.

3.5 Resultados Tardios até 60 meses

Após a alta hospitalar, os pacientes foram acompanhados nos ambulatórios com realização de ECG, *holter* 24 horas, ecocardiograma, inicialmente, com 15/30 e 60 dias de pós-operatório.

O seguimento clínico do pós-operatório tardio foi realizado aos 12, 24, 36, 48 e com 60 meses da alta hospitalar. Na Figura 14 estão expressos os resultados com relação à recidiva no período pós-operatório.

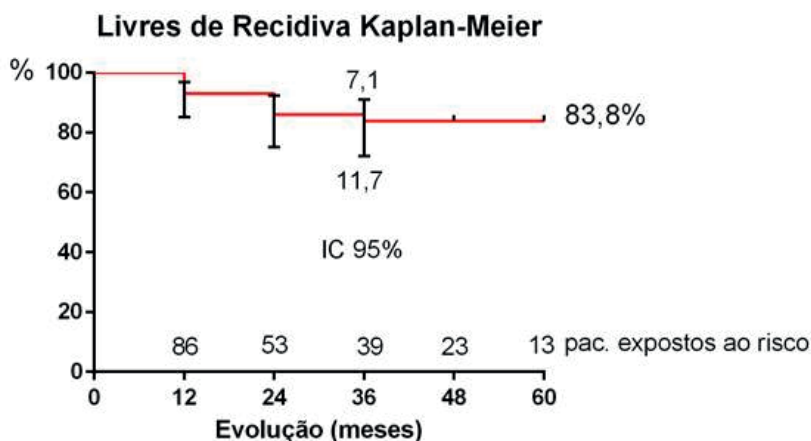
Figura 14: Resultados obtidos no pós-operatório com relação à recidiva de fibrilação atrial crônica por pacientes submetidos à ablação com ultrassom.



O tempo de seguimento variou de 12 a 60 meses. No acompanhamento, após 60 meses, 83,8% dos pacientes mantinham o ritmo sinusal livres de

recidiva (Figura 15).

Figura 15: Curva atuarial (Kaplan-Meier) para probabilidade de permanecer sem recidiva até 60 meses de seguimento em 86 pacientes portadores de FA crônica submetidos a tratamento cirúrgico com US



SURGERY OF CHRONIC ATRIAL FIBRILLATION WITH ULTRASOUND IN PATIENTS WITH MITRAL VALVE LESION: PART I

ABSTRACT - Objective: To evaluate surgical treatment of CAF with US in patients with mitral valve disease, considering preoperative clinical characteristics of patients undergoing surgical treatment of CAF and follow up of patients in the immediate postoperative period, in hospital and later high up to 60 months. Methods: We studied 100 patients with CAF and mitral valve disease who underwent surgical treatment using US ablation. Patient data were reviewed by consulting the control reports, including signs and symptoms, underlying disease, functional class, hospital stay, surgical procedure time, ablation time, immediate, immediately discharged and later up to 60 months. Actuarial curve (Kaplan-Meier) was used for the study of permanence without recurrence after 12, 24, 36, 48 and 60 months. Results: 86% had rheumatic mitral valve disease, 14% degeneration of the mitral valve, 40% mitral regurgitation and 36% mitral stenosis. Main symptoms included palpitations related to tachycardia by CAF (70%), congestive heart failure (70%), and previous episodes of acute pulmonary edema (27%). The early results showed that 94% of patients undergoing ablation US reversed the rate of CAF, being 86% in sinus rhythm and 8% in atrioventricular block. At hospital discharge was observed maintenance of sinus rhythm in 86% of patients and recurrence of CAF in 8%. At follow-up after 60 months 83.8% of patients maintained the sinus rhythm. Conclusions: Surgical treatment of CAF with US concomitant to the mitral valve surgery is feasible and satisfactory, with maintenance of sinus rhythm in most patients (83.8%) after 60 months of follow-up.

KEYWORDS: Atrial fibrillation; Arrhythmias; Ablation techniques; Ultrasound; Cardiac surgery procedures; Mitral valve disease.

CIRURGIA DA FIBRILAÇÃO ATRIAL CRÔNICA COM ULTRASSOM EM PACIENTES COM LESÃO VALVAR MITRAL: PARTE II

Alexandre Visconti Brick

lattes.cnpq.br/8553187430503585

Faculdade de Medicina de Brasília
(UNB)

**Domingo Marcolino Braile – in
memoriam**

lattes.cnpq.br/0145375616627760

Faculdade de Medicina de São José
do Rio Preto (FAMERP)

Faculdade de Medicina da
Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP)

RESUMO - Objetivo: Avaliar tratamento cirúrgico da FAC com US em pacientes com lesão valvar mitral, considerando-se caracterização clínica pré-operatória e acompanhamento desses pacientes no pós-operatório imediato, na alta hospitalar e tardio até 60 meses. Métodos: Foram estudados 100 pacientes portadores de FAC e lesão valvar mitral submetidos a tratamento cirúrgico por meio de ablação com US. Dados foram obtidos em prontuários, incluindo sinais e sintomas, doença de base, classe funcional, tempo de permanência hospitalar, tempo de procedimento cirúrgico, tempo de ablação, complicações imediatas,

alta hospitalar e tardias até 60 meses. Foi utilizada curva atuarial (Kaplan-Meier) para estudo da permanência sem recidiva após 12, 24, 36, 48 e até 60 meses em pacientes com FAC. Resultados: 86% tinham doença valvar mitral reumática, 14% degeneração mitral, 40% eram portadores de insuficiência mitral e 36% estenose mitral. Principais sintomas incluíram palpitações (70%), insuficiência cardíaca congestiva (70%) e episódio prévio de edema agudo de pulmão (27%). Resultados imediatos mostraram que 94% dos pacientes submetidos à ablação com US reverteram o ritmo de FAC, 86% em ritmo sinusal e 8% em bloqueio atrioventricular. Na alta hospitalar observou-se manutenção do ritmo sinusal em 86 pacientes e recidiva da FAC em 8. No acompanhamento, após 60 meses, 83,8% dos pacientes mantinham o ritmo sinusal. Conclusão: O tratamento cirúrgico da FAC com US concomitante e a cirurgia valvar mitral é factível e satisfatório, com manutenção do ritmo sinusal na maioria dos pacientes (83,8%), após 60 meses de seguimento.

PALAVRAS-CHAVE: Fibrilação atrial; Arritmias; Técnicas de ablação; Ultrassom; Procedimentos de cirurgia

cardíaca; Valvopatia mitral.

4. DISCUSSÃO

Os resultados desta pesquisa mostram que o tratamento cirúrgico da FA crônica com US em pacientes com lesão valvar mitral é factível. Na maioria dos pacientes com FAC, doença mitral reumática, insuficiência mitral, palpitações, relacionadas à taquicardia e insuficiência cardíaca congestiva são mais frequentes. O índice baixo de complicações intra e pós-operatórias mostra que a ablação cirúrgica da FAC com US, concomitante a cirurgia valvar, é segura e eficaz. O índice de manutenção do ritmo sinusal após 60 meses de seguimento para esses pacientes mostra benefícios da ablação cirúrgica com US no tratamento dessa arritmia.

Com relação à classe funcional, todos os pacientes apresentaram melhora considerável, mantendo-se a maioria em classe I/II, indicando que a manutenção do ritmo com contração dos átrios influenciou positivamente nos resultados.

Neste estudo, variáveis como tamanho do átrio esquerdo, fração ejeção do ventrículo esquerdo e classe funcional da ICC (NYHA) após procedimento cirúrgico, apesar de importantes na evolução dos pacientes, com influência no resultado final, não foram analisadas, pois o que interessava era a arritmia com manutenção ou não do ritmo sinusal.

Fukada *et al.*,⁽⁹⁷⁾ realizando a operação de Cox nos portadores de doença valvar mitral com FA, observaram que os casos ideais eram os portadores de doença de origem não reumática. Neste estudo, 14 pacientes não tinham doença reumática. Apesar de o número de pacientes menor em relação aos reumáticos, que são prevalentes⁽⁹⁸⁾ pode-se observar melhores resultados tanto imediatos como na avaliação a longo prazo, demonstrando que o comprometimento dos átrios, provocado pela febre reumática, inclusive calcificação, compromete a reversão da FAC.

Nesta série, 20 pacientes apresentaram tromboembolismo, sendo 13 com AVC pré-operatório e embolia periférica, com consequente agravamento da doença. A perda da contração atrial eficaz, a estase do sangue nos átrios, predispõe ao tromboembolismo com risco 5 vezes maior de AVC, sendo que a FA é responsável por até 15% de todos os casos de AVC.^(99,100)

O tratamento clínico a longo prazo de pacientes portadores de FAC com drogas antiarrítmicas está associado com taxa de falha de 50% no primeiro ano e de até 84% em dois anos.⁽¹⁶⁾ O tratamento médico da FAC visa melhorar o controle da frequência ventricular e prevenção do risco de tromboembolismo com anticoagulantes orais.

Diante de resultados insatisfatórios com tratamento clínico e aumento da incidência de FAC, principalmente nos idosos, faixa etária que vem aumentando proporcionalmente em relação às outras faixas, o trabalho pioneiro de Cox *et al.*^(44,46,47) demonstrou a possibilidade de tratar

cirurgicamente a FA.

Kong *et al.*,⁽¹⁰¹⁾ comparando por meio de meta-análise a eficácia do procedimento do labirinto (*Maze*) concomitante à cirurgia cardíaca *versus* terapia farmacológica para tratamento de pacientes com FA valvar, concluíram que o tratamento cirúrgico está associado à redução de FA após 1 ano, sem aumento significativo no tempo médio de permanência hospitalar, complicações operatórias ou mortalidade por todas as causas.

A ablação atrial pode ser obtida desde a tradicional técnica de corte e sutura até a técnica simplificada de isolamento das veias pulmonares.^(102,103) Em estudo randomizado de correção cirúrgica da FAC Albrech *et al.*⁽¹⁰⁴⁾ demonstraram que ambas as técnicas (*Maze* modificado e isolamento das veias pulmonares) têm vantagens sobre as correções isoladas das lesões cardíacas quando associadas à FAC.

Comparar os resultados dos diversos trabalhos da literatura sobre tratamento cirúrgico da FAC é difícil, devido à quantidade ampla de variáveis analisadas, diferentes classificações e técnicas de tratamento.

Em revisão de literatura recente, Brick & Braile⁽⁷⁶⁾ identificaram 72 trabalhos sobre evolução e aperfeiçoamento da cirurgia das arritmias. Nesse estudo, analisando trabalhos com resultados imediatos, o percentual de retorno ao ritmo sinusal variou de 73 a 96%, enquanto os de resultados tardios (a partir de 12 meses) a variação foi 62 a 97,7%. Em ambos, houve consequente melhoria clínica dos pacientes que se submeteram à ablação, independentemente da fonte de energia utilizada.

Nesta pesquisa, houve cuidado em tentar uniformizar a amostra, eliminando portadores de outras doenças que cursam com FAC como as congênitas e coronariopatias. Apenas os portadores de lesão das valvas mitral e tricúspide foram tratados concomitantemente, pois é importante a realização de ablação também nos átrios direitos para eliminar possíveis focos de *flutter* atrial.⁽⁷⁰⁾

Um fator considerado fundamental para otimizar e diminuir tempos operatórios, que é um dos obstáculos à aplicação clínica generalizada do procedimento III *Cox-Maze*,⁽⁴⁹⁾ foi o desenvolvimento de fontes alternativas de energia pela aplicação tópica, possibilitando procedimentos mais rápidos e menos invasivos.

No presente estudo, verificou-se que 75% dos pacientes, num acompanhamento de 60 meses, estavam em ritmo sinusal, após cirurgia da valva mitral associada com ablação da FAC, utilizando como fonte de energia o US. Esse resultado é concordante com a literatura.⁽⁷⁶⁾

Resultados de meta-análise com 62 estudos sobre ablação cirúrgica em pacientes com FA submetidos à cirurgia valvar mitral mostram taxa significativamente maior de ritmo sinusal nesses pacientes, sem aumento na taxa de mortalidade.⁽⁸⁶⁾

A fonte de energia ideal seria rápida, confiável, com produção de

lesão transmural, que não danificasse os tecidos circundantes, sendo passível de usar com CEC, de aplicação minimamente invasiva, por via endocárdica e epicárdica.⁽¹⁰⁵⁾

Gomes *et al.*,⁽¹⁰⁶⁾ utilizando eletrocautério em cirurgia valvar mitral, verificaram que essa fonte de energia reverteu arritmia em número significativo de pacientes. Brick (comunicação pessoal) teve oportunidade, na ausência do equipamento de US, de utilizar eletrocautério em pequeno número de pacientes, não recomendando seu uso rotineiro por provocar carbonização com liberação de pequenos êmbolos dentro do átrio.

Os primeiros pacientes operados pelo autor para correção da FAC, não incluídos nesta análise, foram com cateter de radiofrequência unipolar. O desenvolvimento de dispositivos de ablação bipolar, com cateter irrigado, contribuiu para o aperfeiçoamento técnico do procedimento com consequente tempo menor de cirurgia e resultados operatórios satisfatórios, com taxa de reversão para o ritmo sinusal de 96%.⁽⁷⁰⁾ Seguiu-se iniciando o emprego do bisturi de US, que pareceu mais adequado, facilitando o procedimento com resultados melhores e com menor tempo de cirurgia.⁽¹⁰⁷⁾

Benussi *et al.*⁽¹⁰⁸⁾ descreveram aplicação de radiofrequência em pacientes com lesão valvar mitral. O procedimento, semelhante ao realizado por este autor, contornou também as veias pulmonares direita e esquerda, com exclusão do apêndice atrial esquerdo. Após 36 meses de evolução, 77% dos pacientes avaliados (n = 132) estavam livres da FA. Em nossa casuística, após 60 meses, o percentual de manutenção do ritmo sinusal foi superior ao obtido por Benussi *et al.*⁽¹⁰⁸⁾, ou seja, 83,8%.

Este autor utilizou radiofrequência bipolar para tratamento cirúrgico de FA, com o sistema *Cardioblate®* e o *AtriCure®* em 8 casos. Em todas as intervenções seguiu-se o princípio da cirurgia original de Cox para orientar os procedimentos, com a caneta de radiofrequência irrigada, substituíram-se as linhas de corte e sutura, simplificando o procedimento, reduzindo tempo e risco de complicações. A opção pelo uso do US com bisturi harmônico (*UltraCision®*) foi pela disponibilidade do sistema na maioria dos hospitais onde, rotineiramente, é utilizado nas cirurgias videolaparoscópicas.

O efeito do US no tratamento da FA é produzido por lesão tecidual, decorrente de hipertermia, com necrose do tecido, sendo capaz de produzir lesão transmural, podendo ser utilizado tanto por via endocárdica como epicárdica, de maneira minimamente invasiva.⁽⁸²⁾

A energia do US, utilizada em várias aplicações na medicina, principalmente nas cirurgias videolaparoscópicas, para corte e coagulação⁽⁹⁶⁾ fornece energia ao tecido atrial, que resulta no aquecimento profundo, necrose de coagulação e bloqueio de condução. Trabalho experimental de Santos⁽⁸²⁾ mostrou que a energia do US é capaz de produzir lesão transmural, provocando bloqueio da condução.

Na experiência deste autor^(70,107) por dificuldade inicial de cateter

adequado para realizar a ablação cirúrgica com radiofrequência e pela experiência do uso do bisturi de US nas cirurgias para tratamento da taquicardia ventricular refratária em pacientes chagásicos com aneurisma de ventrículo esquerdo,⁽⁹⁵⁾ iniciou-se o uso do US com bisturi harmônico (*UltraScision®*).

A caneta utilizada inicialmente foi a mesma utilizada para dissecação e coagulação do pedículo vascular e do ducto cístico em cirurgia de vídeo colecistectomia. Posteriormente, foi desenvolvida caneta mais adequada, sem o gancho e de maior comprimento, para facilitar a abordagem das veias pulmonares, substituindo o pedal por controle manual, o que facilitou a coordenação e os movimentos de ablação.

Atualmente, vários dispositivos utilizando US foram desenvolvidos, tanto para aplicação endo como epicárdica, facilitando o procedimento e tornando a cirurgia menos invasiva e mais segura. Um desses sistemas foi desenvolvido pela companhia *St Jude Medical Inc*, cujo nome comercial é *Epicor®*, com o qual este autor teve oportunidade de realizar demonstração prática no *Hands Room* do 37º Congresso da Sociedade Brasileira de Cirurgia Cardiovascular, em Belém, embora ainda não o tenha aplicado clinicamente.

A realização da ablação transoperatória com US, além de facilitar e diminuir o tempo operatório, permitiu maior entendimento do papel do átrio esquerdo e das veias pulmonares na FAC.^(109,110)

Os índices de sucesso de reversão da FAC deste estudo são comparados aos de outros autores^(85,91,111) nas mais diversas técnicas utilizando fontes de energia, tais como radiofrequência, crioablação e US, realizando, do mesmo modo, linhas de ablação nos átrios.

Nesta casuística, analisando os resultados imediatos e hospitalares, foi observada manutenção do ritmo sinusal em 94% e 86% dos pacientes, respectivamente.

Lins *et al.*,⁽⁹¹⁾ comparando pacientes submetidos à ablação por US em relação aos que não a realizaram, verificaram naqueles tratados com US que 80% dos pacientes estavam livres de FA e, no outro grupo, apenas 30%. Os resultados observados nessa pesquisa são semelhantes aos obtidos no presente estudo, comprovando que a ablação por US pode ser aplicada nos pacientes que apresentam indicação cirúrgica para correção de doença valvar mitral.

Em estudo multicêntrico, Ninet *et al.*,⁽¹¹²⁾ estudando prospectivamente 103 pacientes utilizando US para ablação epicárdica da FA, constataram após 6 meses que 85% dos pacientes estavam em ritmo sinusal, demonstrando a vantagem do uso da energia do US, produzindo lesão transmural ao redor do átrio esquerdo sem uso de CEC.

Nesta pesquisa, a abordagem do átrio direito (biatrial) foi realizada em todos os pacientes, pois se considerou importante para tratar e evitar o *flutter* atrial, que está relacionado com as veias cava e átrio direito.

Kim *et al.*,⁽¹¹³⁾ comparando resultados obtidos em pacientes com FA associada à doença valvar mitral submetidos à ablação atrial esquerda ou biatrial, constataram que ablação biatrial foi mais efetiva na restauração e manutenção do ritmo sinusal sem aumentar risco de complicações pós-operatórias.

Desde o início da experiência do autor⁽¹⁰⁷⁾ foi realizada, concomitantemente, de rotina, em todos os pacientes, a ablação biatrial, com o objetivo de tratar e evitar o *flutter* atrial.

Budera *et al.*,⁽¹¹⁴⁾ comparando cirurgia valvar com e sem ablação em estudo multicêntrico randomizado de 224 pacientes com FA, constataram que a ablação melhora a probabilidade da presença de ritmo sinusal no pós-operatório, sem aumentar as complicações.

Investigando prospectivamente resultados a longo prazo (4 anos) de ablação cardíaca com US em 103 pacientes, Feyrer *et al.*⁽⁹²⁾ verificaram que o tratamento da FA durante cirurgia cardíaca concomitante é procedimento seguro e eficaz para a restauração do ritmo sinusal.

Nesta casuística, os resultados operatórios foram também seguros, com apenas complicação em 1 paciente relacionada ao procedimento de ablação (lesão no átrio esquerdo) e com resultados imediatos de reversão ao ritmo sinusal de 94% e tardia, após 60 meses, de 83,8%. Pode-se observar, ao longo do tempo, a diminuição dos índices de recidiva com manutenção do ritmo sinusal.

É importante ressaltar que na utilização de fontes de energia e, no caso, do US, o tempo de cirurgia durante a correção da valvopatia mitral deve ser reduzido. Em casos de FAC associados à valvopatia, alguns autores concluíram que a operação de Cox mostrou ser eficiente no controle da arritmia, entretanto, demonstraram que esse procedimento demanda tempo operatório maior. Jatene *et al.*⁽⁵⁰⁾ demonstraram tempo de operação de 450 minutos, de CEC de 155,6 minutos e 125,9 minutos de parada anóxica. Kosakai *et al.*,⁽¹¹⁵⁾ em pacientes com lesão valvar mitral, citaram tempo médio de CEC de 226 minutos e de parada anóxica de 142 minutos.

Nesta investigação, os tempos operatórios foram satisfatórios em comparação com outras técnicas para tratamento cirúrgico de FAC. O tempo mediano de operação foi 142 minutos e o de parada anóxica de 45 minutos. Os tempos para realização das linhas de ablação foram 12,5 minutos (átrio direito) e 14 minutos (átrio esquerdo) (Tabela 1).

Dentre outras complicações encontradas por Jatene *et al.*⁽⁵³⁾ e Kosakai *et al.*,⁽¹¹⁵⁾ observa-se o risco de sangramento pela grande quantidade de cortes e suturas. Nesta série, houve apenas um acidente relacionado com ablação, com rotura da parede do átrio esquerdo, resolvido com sutura simples, utilizando fio de polipropileno.

As complicações no pós-operatório, tais como síndrome de baixo débito cardíaco e insuficiência respiratória, não tiveram relação com a não

reversão da arritmia, entretanto, devido às complicações do pós-operatório, esses pacientes não mantiveram o ritmo sinusal. Nesta pesquisa, a taxa de mortalidade foi 4%, não relacionada com arritmia.

A FA por ser considerada benigna foi negligenciada. Todavia, ela se associa a muitas complicações potencialmente letais com elevada taxa de morbimortalidade. Algumas perguntas devem ser feitas para terapêutica da FA, tais como: É reversível? Qual o tempo de arritmia? Existem sintomas relacionados? Existe doença estrutural de base? No caso de valvopatia mitral com indicação cirúrgica, verificar a idade e condição clínica do paciente e, finalmente, qual a melhor opção de tratamento e o impacto na morbidade e mortalidade.

Além da aplicação endocárdica, o US com outros dispositivos como o *Epicor*®, pode ser utilizado em cirurgia sem CEC, por via epicárdica, em pacientes portadores de fibrilação isolada, assim como em portadores de doença isquêmica submetidos à revascularização do miocárdio.⁽¹¹⁶⁾ O objetivo do Consenso da *International Society of Minimally Invasive Cardiothoracic Surgery (ISMICS)*⁽¹¹⁷⁾ foi determinar se a ablação operatória da FA durante procedimentos cardíacos associados melhora os resultados clínicos pós-operatórios. O grupo envolvido no trabalho analisou as melhores evidências disponíveis, com revisão sistemática de dados, inclusão de trabalhos randomizados-controlados ou não, sempre em ordem decrescente de importância. A revisão sistemática com meta-análise identificou 10 trabalhos randomizados (650 pacientes) e 23 não randomizados (3997 pacientes), a grande maioria foi publicada na língua inglesa e realizada nos Estados Unidos.

Os autores do consenso definiram as seguintes recomendações: em pacientes portadores de FA persistente e permanente, a ablação operatória é recomendada para aumentar a incidência de ritmo sinusal a curto e longo prazos (classe 1, nível A); para reduzir o risco de AVC e fenômenos tromboembólicos (classe 2a, nível B); aumentar a tolerância ao exercício e melhorar a função ventricular (classe 2a, nível A) e aumentar a sobrevivência (classe 2a, nível B).⁽¹¹⁷⁾

A técnica de utilização do US para tratamento da FAC com valvopatia mitral é de execução fácil, índice baixo de complicações, com tempo mínimo de cirurgia e de CEC. Pode ser reproduzida por vários centros de cirurgia cardíaca, necessitando, somente, do bisturi de US, que existe na maioria dos hospitais que realizam cirurgia videolaparoscópica.

Desde a cirurgia clássica do labirinto (*Cox Maze*) vem ocorrendo mudanças na cirurgia da FA com uso de fontes alternativas de energia. Os resultados da ablação cirúrgica da FAC em pacientes com lesão valvar mitral dependem da fonte de energia utilizada, da lesão produzida ser transmural, aplicada nos dois átrios e, com a tecnologia atual, pode ser minimamente invasiva.

Considerando a mortalidade e, principalmente, a morbidade provocada pela FAC, com sequelas, na maioria das vezes irreversíveis, é mandatório que algum procedimento seja realizado, de rotina, na tentativa de eliminar essa arritmia em pacientes que serão submetidos à cirurgia cardíaca, sobretudo os portadores de lesão da valva mitral.

A ablação das veias pulmonares e ao redor das veias cavas, focos principais para o desencadeamento e manutenção da FA e do *flutter* crônicos, é capaz de eliminar os focos de FA, facilitando o procedimento, comprovando a importância do uso de fonte de energia (US), evitando cirurgias com grandes incisões e, em sua maioria, com tempo prolongado e complicações no per e pós-operatório.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

1- Pacientes com doença mitral reumática apresentam frequentemente insuficiência e estenose mitral, palpitações relacionadas à taquicardia pela FA crônica e insuficiência cardíaca congestiva;

2- O tratamento cirúrgico da FA crônica com US concomitante a cirurgia valvar mitral é factível e satisfatório, com manutenção do ritmo sinusal na maioria dos pacientes (83,8%), após 60 meses de seguimento.

REFERÊNCIAS

- 1- Lip GYH, Beevers DG. ABC of atrial fibrillation. History, epidemiology, and importance of atrial fibrillation. *Br Med J* 1995;311:1361-3.
- 2- McMichael J. History of atrial fibrillation 1628-1819 – Harvey – de Senac – Laënnec. *Br Heart J* 1982;48:193-7.
- 3- Acierno LJ. Electrophysiologic disturbances. In: Acierno LJ (ed.). *The history of cardiology*. New York, The Panthenon Publishing Group, 1994; pp. 335-98.
- 4- Pimenta J, Moreira JM. A história da FA. In Moreira DAR, editores. *FA*, São Paulo: Lemos Editorial; 2003. p. 11-29.
- 5- Moe GK, Abildskov JA. Atrial fibrillation as a self sustaining arrhythmia independent of focal discharge. *Am Heart J* 1959;58:59-70.
- 6- Moe FK. On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation, *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1962;140:183-8.
- 7- Allesie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, Hollen JM. Experimental evaluation of Moe's multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. In: Zipes DP, Jalife J, editors. *Cardiac electrophysiology and arrhythmias*. Orlando, Florida: Grune & Stratton; 1985. p.265-75.

8- Rensma P, Allesie M, Lammers WJ, Bonke FI, Schalij MJ. Length of excitation wave and susceptibility to reentrant atrial arrhythmias in normal conscious dogs. *Circ Res* 1988;62:395-410.

9- Allesie MA, Bonke FIM, Schopman FJG. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. III. The "leading circle" concept: a new mode of circus movement in cardiac tissue without the involvement of an anatomical obstacle. *Circ Res* 1977;41:9-18.

10- Moe GK, Rheinboldt WC, Abildskov JA. A computer model of atrial fibrillation. *Am Heart J* 1964;67:200-20.

11- Zimmerman LI, Fenelon G, Martinelli Filho M, Grupi C, Atié J, Lorga Filho A, *et al.* Diretrizes Brasileiras de FA. *Arq Bras Cardiol* 2009;92(Supl.1):1-39.

12- Ostranderlrd JR, Brandt RL, Kjelsberg MO, Epstein FH. Electrocardiographic findings among the adult population of a total natural community, Tecumseh, Michigan. *Circulation* 1965;31:888-98.

13- Flegel KM, Shipley MJ, Rose G. Risk of stroke in non-rheumatic atrial fibrillation. *Lancet* 1987;1:526-9.

14- Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: Framingham Study. *Stroke* 1991;22:983-8.

15- Furberg CD, Psaty BM, Manolio TA, Gardin JM, Smith VE, Rautaharju PM. Prevalence of atrial fibrillation in elderly subjects (the Cardiovascular Health Study). *Am J Cardiol* 1994;74:236-41.

16- Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, McNamara PM. Coronary heart disease and atrial fibrillation: the Framingham Study. *Am Heart J* 1983;106:389-96.

17- Psaty BM, Manolio TA, Kuller LH, Kronmal RA, Cushman M, Fried LP, *et al.* Incidence of and risk factors for atrial fibrillation in older adults. *Circulation* 1997;96:2455-61.

18- Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB. Atrial fibrillation: a major contributor to stroke in the elderly: The Framingham Study. *Arch Intern Med* 1987;147:1561-4.

19- Krahn AD, Manfreda J, Tate RB, Mathewson FA, Cuddy TE. The natural history of atrial fibrillation: incidence, risk factors, and prognosis in the Manitoba Follow-Up Study. *Am J Med* 1995;98:476-84.

20- Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, D'Agostino RB, Belanger AJ, Wolf PA. Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort: the Framingham Heart Study. *JAMA* 1994;271:840-4.

21- Prystowsky EN. Tachycardia-induced tachycardia: a mechanism of initiation of atrial fibrillation. In: DiMarco JP, Prystowsky EN, editors. *Atrial arrhythmias: state of the art*. Armonk, NY: Futura Publishing; 1995. p.123-49.

- 22- Coumel P. Neural aspects of paroxysmal atrial fibrillation. In: Falk RH, Podrid PJ, editors. Atrial fibrillation: mechanisms and management. New York: Raven Press; 1992. p.109-25.
- 23- Haissagüerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, *et al.* Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med* 1998;339:659-66.
- 24- Brugada R, Tapscott T, Czernuszewicz GZ, Marian AJ, Iglesias A, Mont L, *et al.* Identification of a genetic locus for familial atrial fibrillation. *N Engl J Med* 1997;336:905-11.
- 25- Fuster V, Ryden LE, Asinger RW, Cannom DS, Crijns HJ, Frye RL, *et al.* ACC/AHA/ESC guidelines for the management of patients with atrial fibrillation. A report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines and Policy Conferences (Committee to develop guidelines for the management of patients with atrial fibrillation) developed in collaboration with the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Eur Heart J* 2001;22:1852-923.
- 26- De Paola AAV, Veloso HH. Efficacy and safety of sotalol versus quinidine for the maintenance of sinus rhythm after conversion of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 1999;84:1033-7.
- 27- Balser JR, Martinez EA, Winters BD, Perdue PW, Clarke AW, Huang W, *et al.* Beta-adrenergic blockade accelerates conversion of postoperative supraventricular tachyarrhythmias. *Anesthesiology* 1998;89:1052-9.
- 28- Clemp H, Wood MA, Gilligan DM, Ellenbogen KA. Intravenous amiodarone for acute heart rate control in the critically ill patient with atrial tachyarrhythmias. *Am J Cardiol* 1998;81:594-8.
- 29- EAFT (European Atrial Fibrillation Trial) Study Group. Secondary prevention in non-rheumatic atrial fibrillation after transient ischaemic attack or minor stroke. *Lancet* 1993;342:1255-62.
- 30- Hart RG, Benavente O, McBride R, Pearce LA. Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1999;131:492-501.
- 31- Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Risk factors for thromboembolism during aspirin therapy in patients with atrial fibrillation: the Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 1995;5:147-57.
- 32- The Atrial Fibrillation Investigators. The efficacy of aspirin in patients with atrial fibrillation: analysis of pooled data from 3 randomized trials. *Arch Intern Med* 1997;157:1237-40.
- 33- The SPAF III Writing Committee for the Stroke Prevention in Atrial Fibrillation

Investigators. Patients with nonvalvular atrial fibrillation at low risk of stroke during treatment with aspirin: Stroke Prevention in Atrial Fibrillation III Study. *JAMA* 1998;279:1273-7.

34- Tieleman RG, Van Gelder IC, Crijns HJ, De Kam PJ, Van Den Berg MP, Haaksma J, *et al.* Early recurrences of atrial fibrillation after electrical cardioversion: a result of fibrillation-induced electrical remodeling of the atria? *J Am Coll Cardiol* 1998;31:167-73.

35- van Noord T, van Gelder IC, Schoonderwoord BA, Crijns HJ. Immediate reinitiation of atrial fibrillation after electrical cardioversion predicts subsequent pharmacologic and electrical conversion to sinus rhythm on amiodarone. *Am J Cardiol* 2000;86:1384-5.

36- Harrison L, Gallagher JJ, Kasell J, Anderson RH, Mikat E, Hackel DB, *et al.* Cryosurgical ablation of the AV node-His bundle: A new method for producing AV block. *Circulation* 1977;55:463-70.

37- Williams JM, Ungerleider RM, Lofland GK, Cox JL. Left atrial isolation: new technique for the treatment of supraventricular arrhythmias. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980;80:373-80.

38- Scheinman M, Morady F, Hess DS, Gonzalez R. Catheter-induced ablation of the atrioventricular junction to control refractory supraventricular arrhythmias. *JAMA* 1982;248:851-5.

39- Gallagher JJ, Svenson RH, Kasel JH, German LD, Bardy GH, Broughton A, *et al.* Catheter technique for closed-chest ablation of the atrioventricular conduction system: A therapeutic alternative for the treatment of refractory supraventricular tachycardia. *N Engl J Med* 1982;306:194-200.

40- Guiraudon GM, Campbell CS, Jones DL, McLellan JL, MacDonald JL. Combined sino-atrial node atrioventricular node isolation: a surgical alternative to His bundle ablation in patients with atrial fibrillation [abstract]. *Circulation* 1985;72(Pt 2):III220.

41- Guiraudon GM, Klein GL, Yee R, Leitch JW, Kaushik RR, McLellan DG. Surgery for atrial tachycardia. *Pace* 1990;13:1996-9.

42- D'Agostino Jr HJ, Harada A, Schussler RB, Boineau JP, Corr PB, Cain ME, *et al.* Global epicardial mapping of atrial fibrillation in a canine model of chronic mitral regurgitation. *Circulation* 1987;76(Suppl 1):165.

43- Canavan TE, Schussler RB, Boineau JP, Corr PB, Cain ME, Cox JL. Computerized global electrophysiological mapping of the atrium in patients with Wolff-Parkinson-White syndrome. *Ann Thorac Surg* 1988;46:223-31.

44- Cox JL, Canavan TE, Schuessler RB, Cain ME, Lindsay BD, Stone C, *et al.* The surgical treatment of atrial fibrillation. II. Intraoperative electrophysiologic mapping and description of the electrophysiologic basis of atrial flutter and atrial fibrillation. *J Thorac*

Cardiovasc Surg 1991;101:406-26.

45- Cox JL. Evolving applications of the maze procedure for atrial fibrillation [invited editorial]. Ann Thorac Surg 1993;55:578-80.

46- Cox JL, Schussler RB, D'Agostino Jr HJ, Stone C, Chang BC, Cain ME, *et al.* The surgical treatment of atrial fibrillation: III – Development of definitive surgical procedure. J Thorac Cardiovasc Surg 1991;101:569-83.

47- Cox JL, Schussler RB, Boineau JP. The surgical treatment of atrial fibrillation: I – Summary of the current concepts of the mechanisms of atrial flutter and atrial fibrillation. J Thorac Cardiovasc Surg 1991;101:402-5.

48- Cox JL, Boineau JP, Schuessler RB, Jaquiss RDB, Lappas DG. Modification of the Maze procedure for atrial flutter and atrial fibrillation. I. Rationale and surgical results. J Thorac Cardiovasc Surg 1995;110:473-84.

49- Cox JL, Jaquiss RDB, Schuessler RB, Boineau JP. Modification of the Maze procedure for atrial flutter and atrial fibrillation. II. Surgical technique of the Maze III procedure. J Thorac Cardiovasc Surg 1995;110:485-95.

50- Jatene AD, Sosa E, Tarasoutchi F, Jatene MB, Pomerantzeff PMA. Tratamento cirúrgico da FA: procedimento do "labirinto": experiência inicial. Rev Bras Cir Cardiovasc 1992;7:107-11.

51- McCarthy PM, Castle LW, Maloney JD, Trohman RG, Simmons TW, White RD, *et al.* Initial experience with the maze procedure for atrial fibrillation. Surgery for acquired heart disease. J Thorac Cardiovasc Surg 1993;105:1077-87.

52- Hioki M, Ikeshita M, Iedokoro Y, Nitta T, Harada A, Asano T, *et al.* Successful Combined Operation for Mitral Stenosis and Atrial Fibrillation. Ann Thorac Surg 1993;55:776-8.

53- Jatene MB, Sosa E, Jatene FB, Tarasoutchi F, Monteiro AC, Salerno PR, *et al.* Evolução tardia da operação de Cox para FA em valvopatia mitral. Rev Bras Cir Cardiovasc 1995;10:18-24.

54- Isobe F, Kawashima Y. The outcome and indications of the Cox Maze III procedure for chronic atrial fibrillation with mitral valve disease. J Thorac Cardiovasc Surg 1998;116:220-7.

55- Raanani E, Albage A, David TE, Yau TM, Armstrong S. The efficacy of the Cox/maze procedure combined with mitral valve surgery: a matched control study. Eur J Cardiothorac Surg 2001;19:438-42.

56- Tsui SSL, Grace AA, Ludman PF, Schofield PM, Page AJP, Rowland E, *et al.* Maze 3 for atrial fibrillation: two cuts too few? PACE 1994;17(PtII):2163-6.

57- Kim KB, Huh JH, Kang CH, Ahn H, Sohn DW. Modifications of the Cox-Maze III

procedure. *Ann Thorac Surg* 2001;71:816-22.

58- Szalay ZA, Skwara W, Pitschner HF, Faude I, Klövekorn WP, Bauer EP. Midterm results after the mini-maze procedure. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;16:306-11.

59- Pinho-Gomes AC, Amorim MJ, Oliveira SM, Leite-Moreira AF. Surgical treatment of atrial fibrillation: an updated review. *Eur J Cardiothorac Surg* 2014;46:167-78.

60- Sueda T, Nagata H, Shikata H, Orihashi K, Morita S, Sueshiro M, *et al.* Simple left atrial procedure for chronic atrial fibrillation associated with mitral valve disease. *Ann Thorac Surg* 1996;62:1796-800.

61- Jazbik JC, Coutinho JH, Amar MR, Silva SL, Jazbik J, Jazbik AT, *et al.* Tratamento cirúrgico da FA em pacientes com insuficiência mitral: proposta inicial de uma nova abordagem cirúrgica. *Rev SOCERJ* 1993;6:142-5.

62- Gregori Jr F, Cordeiro C, Goulart M, Couto N, Rosa V, Silva SS, *et al.* Técnica de Cox sem crioablação para tratamento cirúrgico da FA. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 1993;8:220-4.

63- Batista RJV, Franzoni M, Précoma D, Bochino L, Nery P, Oliveira E, *et al.* Autotransplante cardíaco: um novo método no tratamento de problemas cardíacos complexos. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 1995;10:90-100.

64- Grimberg M, Solimene MC, Belotti G, Verginelli G. Estenose mitral calcificada: aspectos clínicos e cirúrgicos. *Arq Bras Cardiol* 1975;28:17-24.

65- Maratia C, Kalil RAK, Sant'anna JRM, Prates PR, Wender OC, Teixeira Fiçinho GF, *et al.* Fatores preditivos de reversão a ritmo sinusal após intervenção na valva mitral em pacientes com FA crônica. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 1977;12:17-23.

66- Ad N, Henry L, Massimiano P, Pritchard G, Holmes SD. The state of surgical ablation for atrial fibrillation in patients with mitral valve disease. *Curr Opin Cardiol* 2013;28:170-80.

67- Kalil RAK, Lima GG, Abrahão R, Sturmer ML, Albrecht A, Moreno P, *et al.* Técnica cirúrgica simplificada pode ser eficaz no tratamento da FA crônica secundária à lesão valvar mitral? *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2000;15:129-35.

68- Imai K, Sueda T, Orihashi K, Watari M, Matsuura Y. Clinical analysis of results of a simple left atrial procedure for chronic atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg* 2001;71:577-81.

69- Chen MC, Guo BF, Chang JP, Yeh KH, Fu M. Radiofrequency and cryoablation of atrial fibrillation in patients undergoing valvular operations. *Ann Thorac Surg* 1998;65:1666-72.

70- Brick AV, Seixas TN, Portilho CF, Vieira Jr JJ, Mattos JV, Peres AK. Reversão da FA crônica pela técnica do labirinto com aplicação de radiofrequência e US

transoperatório. Rev Bras Cir Cardiovasc 1999;14:290-7.

71- Melo J, Adragão P, Neves J, Ferreira M, Timóteo A, Santiago T, *et al*. Endocardial and epicardial radiofrequency ablation in the treatment of atrial fibrillation with a new intra-operative device. Eur J Cardiothorac Surg 2000;18:182-6.

72- Raman JS, Ishikawa S, Power JM. Epicardial radiofrequency ablation of both atria in the treatment of atrial fibrillation: experience in patients. Ann Thorac Surg 2002;74:1506-9.

73- Gillinov AM, Smedira NG, Cosgrove III DM. Microwave ablation of atrial fibrillation during mitral valve operations. Ann Thorac Surg 2002;74:1259-61.

74- Williams M, Argenziano M, Oz M. Linear atrial ablation using laser energy. Columbia University College of Physicians and Surgeons; 2002.

75- Dong L, Fu B, Teng X, Yuan HS, Zhao SL, Ren L. Clinical analysis of concomitant valve replacement and bipolar radiofrequency ablation in 191 patients. J Thorac Cardiovasc Surg 2013;145:1013-7.

76- Brick AV, Braile DM. Surgical ablation of atrial fibrillation using energy sources. Braz J Cardiovasc Surg 2015;30:636-43.

77- Elvan A, Pride HP, Eble JN, Zipes DP. Radiofrequency catheter ablation of the atria reduces inducibility and duration of atrial fibrillation in dogs. Circulation 1995;91:2235-44.

78- Ruchat P, Schläpfler J, Fromer M, Gardaz JP, Genton CY, von Segesser LK. Atrial fibrillation inhibition by subepicardial radiofrequency ablation in a sheep model [abstracts]. Presented at 12th Annual Meeting of the European Association for Cardiothoracic Surgery; 1998. p.434.

79- Prasad SM, Maniar HS, Schuessler RB, Damiano Jr RJ. Chronic transmural atrial ablation by using bipolar radiofrequency energy on the beating heart. J Thorac Cardiovasc Surg 2002;124:708-13.

80- Manasse E, Infante M, Ghiselli S, Cariboni U, Alloisio M, Barbone A, *et al*. A video-assisted thoracoscopic technique to encircle the four pulmonary veins: a new surgical intervention for atrial fibrillation ablation. Heart Surg Forum 2002;5:337-9.

81- Manasse E, Colombo PG, Barbone A, Braidotti P, Bulfamante G, Roncalli M, *et al*. Clinical histopathology and ultrastructural analysis of myocardium following microwave energy ablation. Eur J Cardiothorac Surg 2003;23:573-7.

82- Santos MA. Estudo experimental comparativo entre US e radiofrequência na realização de linhas de ablação atriais por via epicárdica [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2003.

83- Henry L, Ad N. The surgical treatment for atrial fibrillation: ablation technology and

surgical approaches. Rambam Maimonides Med J 2013;25;4:e0021.

84- Rostagno C, Droandi G, Gelsomino S, Carone E, Gensini GF, Stefano PL. Surgical RF ablation of atrial fibrillation in patients undergoing mitral valve repair for Barlow disease. Cardiology 2013;125:141-5.

85- Huang WZ, Wu YM, Ye HY, Jiang HM. Comparison of the outcomes of monopolar and bipolar radiofrequency ablation insurgical treatment of atrial fibrillation. Chin Med Sci J 2014;29:28-32.

86- Phan K, Xie A, Tian DH, Shaikhrezai K, Yan TD. Systematic review and meta-analysis of surgical ablation for atrial fibrillation during mitral valve surgery. Ann Cardiothorac Surg 2014;3:3-14.

87- Phan K, Xie A, La Meir M, Black D, Yan TD. Surgical ablation for treatment of atrial fibrillation in cardiac surgery: a cumulative meta-analysis of randomised controlled trials. Heart 2014;100:722-30.

88- Wang X, Wang X, Song Y, Hu S, Wang W. Efficiency of radiofrequency ablation for surgical treatment of chronic atrialfibrillation in rheumatic valvular disease. Int J Cardiol 2014;174:497-502.

89- Krum D, Shetty S, Mare J *et al.* Characteristics of myocardial lesions created using microwave energy: optimization of antenna design (Abstr). Circulation 1994;90:1271.

90- MacDonald DR, Maruthappu M, Nagendran M. How effective is microwave ablation for atrial fibrillation during concomitant cardiacsurgery? Interact Cardiovasc Thorac Surg 2012;15:122-7.

91- Lins RMM, Lima RC, Silva FPV, Menezes AM, Salerno PR, Thé EC, *et al.* Tratamento da FA com ablação por US, durante correção cirúrgica de doença valvar cardíaca. Rev Bras Cir Cardiovasc 2010;25:326-32.

92- Feyrer R, Ballazhi F, Seitz T, Weyand M, Harig F. Impact of medical treatment on long-term results after surgical ablation of atrial fibrillation in cardiac surgical patients. Ann Thorac Cardiovasc Surg 2014;20:207-12.

93- Hindricks F, Mohr W, Autschbach R and Kottkamp H. Antiarrhythmic surgery for treatment of atrial fibrillation: new concepts. Thorac Cardiovasc Surg 1999;47(Suppl):365-9.

94- Melo J, Adragão P, Neves J, Ferreira MM, Pinto MM, Rebocho MJ, *et al.* Surgery for atrial fibrillation using radiofrequency catheter ablation: assessment of results at one year. Eur J Cardiothorac Surg 1999;15:851-5.

95- Brick AV, Seixas TN, Portilho CF, Vieira Jr JJ, Mattos JV, Peres AK. Tratamento cirúrgico da taquicardia ventricular refratária: nova proposta técnica. Rev Bras Cir Cardiovasc 1997;12:269-73.

96- Amaral JF. The experimental develop of an ultrasonically activated scalpel for laparoscopic use. *Surg Lap Endoscopy* 1994;4:92-9.

97- Fukada J, Morishita K, Komatsu K, Sato H, Shiiku C, Muraki S, *et al.* Is atrial fibrillation resulting from rheumatic mitral valve disease a proper indication for the maze procedure? *Ann Thorac Surg* 1998;65:1566-70.

98- Diker E, Aydogdu S, Özdmir M, Kural T, Polat K, Cehreli S, *et al.* Prevalence and predictors of atrial fibrillation in rheumatic valvular heart disease. *Am J Cardiol* 1996;77:96-8.

99- Gullov AL, Koefoed BG, Petersen P, Petersen TS, Andersen ED, Godtfredesen J, *et al.* Fixed minidose warfarin and aspirin alone and in combination vs adjusted-dose warfarin for stroke prevention in atrial fibrillation: Second Copenhagen Atrial Fibrillation, Aspirin, and Anticoagulation Study. *Arch Intern Med* 1998;158:1513-21.

100- Gullov AL, Koefoed BG, Petersen P. Bleeding during warfarin and aspirin therapy in patients with atrial fibrillation: the AFASK 2 study. Atrial fibrillation aspirin and anticoagulation. *Arch Intern Med* 1999;159:1322-1.

101- Kong MH, Lopes RD, Piccini JP, Hasselblad V, Bahnson TD, Al-Khatib SM. Surgical Maze procedure as a treatment for atrial fibrillation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Cardiovasc Ther* 2010;28:311-26.

102- Taylor GW, Kay GN, Zheng X, Bishop S, Ideker RE. Pathological effects of extensive radiofrequency energy applications in the pulmonary veins in dogs. *Circulation* 2000;101:1736-42.

103- Lee JW, Choo SJ, Kim KI, Song JK, Kang DH, Song JM, *et al.* Atrial fibrillation surgery simplified with cryoablation to improve left atrial function. *Ann Thorac Surg* 2001;72:1479-83.

104- Albrecht A, Kalil RAK, Schuch L, Abrahão R, Sant'Anna JRM, de Lima GG, *et al.* Randomized study of surgical isolation of the pulmonary veins for correction of permanent atrial fibrillation associated with mitral valve disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;138:454-9.

105- La Meir M. Surgical options for treatment of atrial fibrillation. *Ann Cardiothorac Surg* 2014;3:30-7.

106- Gomes Jr JF, Pontes JCDV, Gomes OM, Duarte JJ, Gardenal N, Dias AMSAS, *et al.* Tratamento cirúrgico da FA crônica com eletrocautério convencional em cirurgia valvar mitral. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2008;23:365-71.

107- Brick AV, Seixas T, Portilho C, Peres A K, Vieira Jr J J, Melo Neto R, Araújo J M. Tratamento intra-operatório da FA crônica com ultra-som. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2001;16:337-49.

108- Benussi S, Nascimbene S, Agricola E, Calori G, Calvi S, Caldarola A, *et al.*

Surgical ablation of atrial fibrillation using the epicardial radiofrequency approach: mid-term results and risk analysis. *Ann Thorac Surg* 2002;74:1050-7.

109- Kalil RAK, Lima GG, Leiria TLL, Abrahão R, Pires LM, Prates PR, *et al.* Simple surgical isolation of pulmonary veins for treating secondary atrial fibrillation in mitral valve disease. *Ann Thorac Surg* 2002;73:1169-73.

110- Sueda T, Imai K, Ishii O, Orihashi K, Watari M, Okada K. Efficacy of pulmonary vein isolation for the elimination of chronic atrial fibrillation in cardiac valvular surgery. *Ann Thorac Surg* 2001;71:1189-93.

111- Johansson B, Bech-Hanssen O, Berglin E, Blomström P, Holmgren A, Jensen SM, *et al.* Atrial function after left atrial epicardial cryoablation for atrial fibrillation in patients undergoing mitral valve surgery. *J Interv Card Electrophysiol* 2012;33:85-91.

112- Ninet J, Roques X, Seitelberger R, Deville C, Pomar JL, Robin J, *et al.* Surgical ablation of atrial fibrillation with offpump, epicardial, high-intensity focused ultrasound: results of a multicenter trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130:803-9.

113- Kim JB, Bang JH, Jung SH, Choo SJ, Chung CH, Lee JW. Left atrial ablation versus biatrial ablation in the surgical treatment of atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg* 2011;92:1397-404.

114- Budera P, Straka Z, Osmančík P, Vaněk T, Jelínek Š, Hlavička J, *et al.* Comparison of cardiac surgery with left atrial surgical ablation vs. cardiac surgery without atrial ablation in patients with coronary and/or valvular heart disease plus atrial fibrillation: final results of the PRAGUE-12 randomized multicentre study. *Eur Heart J* 2012;33:2644-52.

115- Kosakai Y, Kawaguchi A, Isobe F, Sasako Y, Nakano K, Eishi K, *et al.* Cox maze procedure for chronic atrial fibrillation associated with mitral valve disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:1049-55.

116- Groh MA, Binns OA, Burton HG 3rd, Champsaur GL, Ely SW, Johnson AM. Epicardial ultrasonic ablation of atrial fibrillation during concomitant cardiac surgery is a valid option in patients with ischemic heart disease. *Circulation* 2008;118(14 Suppl):S78-82.

117- Ad N, Cheng DCH, Martin J, Berglin EE, Chang BC, Doukas G. Surgical Ablation for atrial fibrillation in cardiac surgery: a consensus statement of the International Society of Minimally Invasive Cardiothoracic Surgery (ISMICS) 2009. *Innovations* 2010;5:74-83.

SURGERY OF CHRONIC ATRIAL FIBRILLATION WITH ULTRASOUND IN PATIENTS WITH MITRAL VALVE LESION: PART II

ABSTRACT - Objective: To evaluate surgical treatment of CAF with US in patients with mitral valve disease, considering preoperative clinical characteristics of patients

undergoing surgical treatment of CAF and follow up of patients in the immediate postoperative period, in hospital and later high up to 60 months. Methods: We studied 100 patients with CAF and mitral valve disease who underwent surgical treatment using US ablation. Patient data were reviewed by consulting the control reports, including signs and symptoms, underlying disease, functional class, hospital stay, surgical procedure time, ablation time, immediate, immediately discharged and later up to 60 months. Actuarial curve (Kaplan-Meier) was used for the study of permanence without recurrence after 12, 24, 36, 48 and 60 months. Results: 86% had rheumatic mitral valve disease, 14% degeneration of the mitral valve, 40% mitral regurgitation and 36% mitral stenosis. Main symptoms included palpitations related to tachycardia by CAF (70%), congestive heart failure (70%), and previous episodes of acute pulmonary edema (27%). The early results showed that 94% of patients undergoing ablation US reversed the rate of CAF, being 86% in sinus rhythm and 8% in atrioventricular block. At hospital discharge was observed maintenance of sinus rhythm in 86% of patients and recurrence of CAF in 8%. At follow-up after 60 months 83.8% of patients maintained the sinus rhythm. Conclusions: Surgical treatment of CAF with US concomitant to the mitral valve surgery is feasible and satisfactory, with maintenance of sinus rhythm in most patients (83.8%) after 60 months of follow-up.

KEYWORDS: Atrial fibrillation; Arrhythmias; Ablation techniques; Ultrasound; Cardiac surgery procedures; Mitral valve disease.

POTENCIAL EVOCADO AUDITIVO CORTICAL EM NASCIDOS A TERMO E PRÉ-TERMO

Dayane Domeneghini Didoné

lattes.cnpq.br/3125014661196452

Universidade Federal de Santa
Maria
Santa Maria, Rio Grande do Sul

Alessandra Spada Durante

lattes.cnpq.br/0138489785701371

Faculdade de Ciências Médicas da
Santa Casa de São Paulo
São Paulo, São Paulo

Pricila Sleifer

lattes.cnpq.br/0248404832688265

Universidade Federal do Rio Grande
do Sul
Porto Alegre, Rio Grande do Sul

RESUMO - Introdução: A utilização do potencial evocado auditivo cortical P1 em crianças destaca-se pela verificação da maturação auditiva e pesquisa dos níveis mínimos de respostas corticais. Objetivo: Estudar e comparar o potencial evocado auditivo cortical P1 em neonatos e lactentes nascidos a termo e pré-termo. Metodologia: A amostra foi constituída de 66 neonatos durante o primeiro mês de vida e 37 lactentes durante o terceiro mês de vida.

Desses, 41 nasceram a termo e 25 nasceram pré-termo. No primeiro mês de vida foram pesquisados os níveis mínimos de respostas corticais para as frequências de 500 a 4000Hz. Além disso, verificou-se a maturação da via auditiva central nos nascidos a termo e pré-termo durante os três primeiros meses de vida, por meio do potencial cortical P1 pesquisado em 80dBnNA para as frequências de 500 a 4000Hz. Utilizou-se o equipamento *Hearlab System*, sendo as respostas detectadas automaticamente pelo equipamento e analisadas por juízes. Resultados: Na pesquisa do nível mínimo de resposta cortical durante o primeiro mês de vida, os neonatos nascidos a termo apresentaram melhores respostas quando comparados com os nascidos pré-termo. Além disso, os neonatos nascidos pré-termo dessa pesquisa apresentaram atraso maturacional evidenciado por meio da maior latência do P1 durante os três primeiros meses de vida quando comparados com os nascidos a termo. Conclusão: O nível mínimo de resposta cortical foi maior para os nascidos pré-termo durante o primeiro mês de vida, e a latência do potencial P1 foi maior para os nascidos pré-termo avaliados até o

terceiro mês de vida.

PALAVRAS-CHAVE: Potenciais evocados auditivos; Desenvolvimento infantil; Recém-nascido; Recém-nascido prematuro.

1. INTRODUÇÃO

Os potenciais evocados auditivos representam a atividade neuroelétrica da via auditiva em resposta a um estímulo acústico, desde o VIII par craniano até o córtex auditivo cerebral. Podem ser classificados em potenciais de curta, média e longa latência, dependendo do tempo, em milissegundos (ms), que as respostas auditivas são geradas após a apresentação de um estímulo acústico (MATAS; MAGLIARO, 2015).

Os potenciais evocados auditivos corticais (PEAC), os quais fazem parte dos potenciais evocados auditivos de longa latência, foram descobertos na década de 1930, e utilizados em crianças desde os anos de 1960 e 1970 (WUNDERLICH; CONE-WESSON, 2006; *BRITISH SOCIETY OF AUDIOLOGY*, 2016). Em adultos, são representados pelo complexo P1-N1-P2 (ALMEQBEL, 2013). Contudo, na população pediátrica, devido aos aspectos maturacionais, há predomínio de um pico positivo, denominado por pesquisadores como sendo o componente P1, considerado como um biomarcador do desenvolvimento do sistema auditivo (SHARMA *et al.*, 1997; SHARMA; DORMAN; SPAHR, 2002a; SHAFER; YU; WAGNER, 2015).

Na população infantil o componente P1 pode ser utilizado para verificar a funcionalidade das estruturas auditivas mais centrais (KUSHNERENKO, 2003), fato que vem tornando essa avaliação uma ferramenta adicional para verificação dos aparelhos de amplificação sonora individuais e implantes cocleares (CHANG *et al.*, 2012; DUN; CARTER; DILLON, 2012; KOSANER *et al.*, 2018), no estudo da maturação auditiva (MAITRE *et al.*, 2013; HÖVEL *et al.*, 2015; SUPPIEJ *et al.*, 2015) e obtenção dos níveis mínimos de respostas corticais como ferramenta de auxílio no diagnóstico audiológico em casos de crianças pequenas que não respondem à avaliação comportamental (He *et al.*, 2013), sendo que, nesse último item, alguns estudos já foram realizados em adultos (BARDY *et al.*, 2016; ALANAZI *et al.*, 2017), porém pouco se sabe sobre esse tipo de avaliação em crianças muito pequenas (CONE; WHITAKER, 2013; OLIVEIRA, 2016).

A maturação da via auditiva pode ser prejudicada com o nascimento pré-termo. Estudos referem que há prejuízo no desenvolvimento das vias auditivas dessa população, podendo acarretar alterações de linguagem e/ou cognitivas (MAITRE *et al.*, 2013; HÖVEL *et al.*, 2015). Nesse sentido, a utilização dos potenciais corticais é de grande importância nos períodos do desenvolvimento, por permitir ao clínico entender e acompanhar a maturação das estruturas auditivas centrais. Alguns estudiosos referem que alterações verificadas nos primeiros anos de vida podem prever sobre possíveis alterações linguísticas e/ou cognitivas futuras (MAITRE *et al.*, 2013;

PAQUETTE *et al.*, 2015).

Com base no exposto e pela necessidade de estudos com PEAC em nascidos pré-termo, o presente trabalho teve como objetivo estudar e comparar o potencial evocado auditivo cortical P1 em neonatos e lactentes nascidos a termo e pré-termo, considerando o nível mínimo de resposta cortical no primeiro mês de vida e o acompanhamento maturacional durante os três primeiros meses de vida.

2. MÉTODOS

Trata-se de estudos de corte transversal e longitudinal, prospectivo, contemporâneo, observacional e comparativo, sendo realizados pelo Núcleo de Estudos e Pesquisa em Eletrofisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em parceria com a Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (FCMSCMSP) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de ambas as universidades, sob o número 44965015.8.1001.5334 e 51349315.6.1001.5479. Participaram do estudo somente os neonatos e lactentes, cujos pais ou responsáveis, concordaram com os procedimentos a serem realizados e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

A amostra foi constituída de 66 neonatos durante o primeiro mês de vida e 37 lactentes durante o terceiro mês de vida, de ambos os sexos, com resultado positivo na Triagem Auditiva Neonatal (TAN) bilateralmente, por meio das emissões otoacústicas evocadas transientes (EOAT) e/ou potencial evocado auditivo de tronco encefálico automático (PEATE-A).

Desses participantes, 41 nasceram a termo e 25 nasceram pré-termo, sendo divididos em grupo controle (GC) e grupo estudo (GE). Foram considerados pré-termo os recém-nascidos com idade gestacional menor ou igual a 36 semanas (*BORN TOO SOON*, 2012).

Na primeira etapa da avaliação, os sujeitos de ambos os grupos foram avaliados entre 38 e 43 semanas de idade gestacional, e para a segunda etapa entre 49 e 57 semanas, considerando a idade corrigida para o grupo de recém-nascidos pré-termo. A correção da idade, foi baseada nos objetivos do presente estudo, que visou a verificação da funcionalidade das estruturas auditivas centrais, durante o mesmo período de desenvolvimento entre os grupos.

Após análise dos traçados pelos juízes e devido ao fato de algumas crianças não terem colaborado para realização do procedimento, alguns participantes foram excluídos da amostra. Sendo assim, na primeira avaliação o grupo de nascidos termo foi composto por 35 neonatos e o grupo de nascidos pré-termo por 24 neonatos, enquanto que na segunda avaliação, a amostra foi de 17 e de 18 participantes para o grupo de nascidos termo e pré-termo, respectivamente.

Para o grupo de nascidos a termo considerou-se os seguintes critérios

de inclusão: Idade gestacional maior ou igual a 37 semanas, ausência de indicadores de risco para perda auditiva segundo o *Joint Committee on Infant Hearing* (JCIH, 2007) e o Comitê Multiprofissional em Saúde Auditiva (COMUSA, 2010), em boas condições de saúde, com resultado positivo nos exames auditivos e registro eletrofisiológico de boa qualidade. Para os nascidos pré-termo considerou-se os seguintes critérios de inclusão: Idade gestacional menor ou igual a 36 semanas, em boas condições de saúde, com resultado positivo nos exames auditivos e registro eletrofisiológico de boa qualidade.

Foram excluídos da pesquisa os sujeitos com alterações neurológicas, com síndromes e os que não colaboraram para realização do exame. Para o grupo de pré-termos também foram excluídos os sujeitos com síndromes associadas à deficiência auditiva, histórico familiar de deficiência auditiva, anomalias congênitas, desordens neurológicas, infecção congênita, meningite bacteriana e transfusão sanguínea (RIBEIRO *et al.*, 2010).

Todos os sujeitos foram submetidos à pesquisa do potencial evocado auditivo cortical P1 durante o primeiro e terceiro mês, por meio do equipamento *Hearlab System*. Nesse estudo foi pesquisado o potencial cortical P1, caracterizado por um pico entre 150 e 400ms. As respostas foram pesquisadas por via aérea, com fones de inserção adequados para neonatos e lactentes (ER-3A). O procedimento foi realizado em sala acústica e eletricamente tratada. Os pais ou responsáveis permaneceram sentados em uma poltrona confortável, com os participantes posicionados, confortavelmente, no colo.

Para realização da pesquisa eletrofisiológica os neonatos permaneceram em sono leve ou acordados com movimentos corporais mínimos. Para garantir o estado comportamental dos neonatos utilizou-se a escala de Brazelton (1973). Tal escala possui seis estados comportamentais: Estado 1: sono profundo; Estado 2: sono leve, olhos fechados, algum movimento corporal; Estado 3: sonolento, abrindo e fechando os olhos; Estado 4: acordado, olhos abertos, movimentos corporais mínimos; Estado 5: totalmente acordado, movimentos corporais vigorosos; Estado 6: choro. Foram incluídos no estudo, os neonatos em estado 2, 3 e 4. No terceiro mês de vida, os lactentes permaneceram em alerta.

Foram pesquisadas as respostas do componente P1 para as frequências de 500, 1000, 2000 e 4000Hz. Para cada frequência pesquisou-se a presença ou ausência de resposta, a qual foi detectada de maneira automática pelo equipamento.

Para esse estudo foram utilizados os seguintes parâmetros para obtenção do potencial cortical P1: Módulo do equipamento: *Cortical Tone Evaluation (CTE)*; Frequências avaliadas: 500, 1000, 2000 e 4000Hz; Polaridade: alternada; Intervalo interestímulo: 1.125ms; Rejeição dos estímulos: <20%; Transdutor: Fones de inserção ER-3A; Velocidade do estímulo: 0,5Hz; Duração do estímulo: 40ms; *Rise-fall*: 10ms; *Plateu*:

30ms; Filtro: Passa-alto: 0,16Hz; Passa-baixo: 0,30Hz; Envelope: Cosine; Amplificação do sinal: 1,210 vezes; Posicionamento dos eletrodos: Fpz (terra), M1 ou M2 (referência), Cz (ativo); Pré-estimulação: -100ms; Janela: 600ms; Número de estímulos: mínimo 50 e máximo 200; Impedância dos eletrodos: $< 3Kohm$; Obtenção das respostas: automática/Objetiva (presente quando $p \leq 0,05$); Análise das respostas: juízes com experiência em eletrofisiologia.

A presença ou ausência das respostas em cada frequência foi detectada de forma automática pelo equipamento. Além da análise automática das respostas pelo equipamento, a latência de cada onda foi considerada por três juízes com experiência em eletrofisiologia da audição. Os examinadores foram orientados a realizar a marcação do componente P1 no maior pico positivo observável dentro da janela de 500ms. As avaliações foram realizadas às cegas, sem influência da marcação dos resultados segundo o grupo. A latência e amplitude do componente P1 foi marcada no computador, considerando a análise dos juízes.

Este trabalho foi dividido em dois estudos: O estudo 1, o qual teve como objetivo verificar o nível mínimo de resposta cortical em nascidos a termo e pré-termo durante o primeiro mês de vida, foi realizado conforme o mencionado nos parágrafos anteriores, sendo o componente P1 foi considerado na menor intensidade em que foi detectado automaticamente pelo equipamento, iniciando-se a pesquisa em 80dBnNA e diminuindo a intensidade até o valor mínimo em que o componente P1 foi considerado presente.

Para o estudo 2, o qual teve como objetivo avaliar a maturação da via auditiva central durante os três primeiros meses de nascidos a termo e pré-termo por meio do potencial evocado auditivo cortical P1, também foi realizado de acordo com a metodologia descrita, porém considerou-se a latência e amplitude das respostas do componente P1 durante o primeiro e terceiro mês de vida em 80dBnNA, sendo as respostas comparadas entre os momentos de avaliação e entre os grupos.

Na primeira etapa da avaliação, os sujeitos de ambos os grupos foram avaliados entre 38 e 43 semanas de idade gestacional, e para a segunda etapa entre 49 e 57 semanas, considerando a idade corrigida para o grupo de recém-nascidos pré-termo.

Os dados foram tabulados em planilhas do *Excel* e analisados por meio do programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 20.0. Utilizou-se diferentes testes estatísticos, de acordo com o objetivo de cada estudo, entre eles o *U Mann-Whitney*, ANOVA e Bonferroni. Adotou-se o nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1 Estudo 1: Nível mínimo de resposta cortical de neonatos nascidos a termo e pré-termo

A tabela 1 apresenta os resultados dos níveis mínimos de obtenção do componente P1 para as diferentes frequências avaliadas e entre os grupos. É possível observar que o nível mínimo de resposta cortical foi maior para os nascidos pré-termo.

Tabela 1: Comparação do nível mínimo de resposta cortical para as diferentes frequências testadas e entre os grupos

Frequência		Média±DP	Mediana	1ºQ	2ºQ	3ºQ	Mínimo	Máximo	p-valor
500Hz	Termo (n=35)	26,00±8,81	30,00	15,00	30,00	30,00	5,00	40,00	0.04#
	Pré-termo (n=23)	31,96±10,41	30,00	25,00	30,00	35,00	15,00	60,00	
1000Hz	Termo (n=35)	26,14±6,97	30,00	25,00	30,00	30,00	0,00	35,00	0.00#
	Pré-termo(n=23)	34,13±11,34	30,00	30,00	30,00	40,00	15,00	60,00	
2000Hz	Termo (n=35)	29,00±7,65	30,00	30,00	30,00	35,00	0,00	40,00	0.08#
	Pré-termo (n=22)	33,64±11,03	30,00	30,00	30,00	40,00	5,00	60,00	
4000Hz	Termo (n=35)	29,43±7,04	30,00	25,00	30,00	30,00	15,00	50,00	0.05#
	Pré-termo (n=22)	37,73±11,92	30,00	30,00	30,00	35,00	25,00	65,00	

Legenda: #Teste *U Mann-Whitney* para amostras independentes; DP= desvio padrão; Q= quartil; nível de significância adotado=5%

3.2 Estudo 2: Maturação da via auditiva central durante os três primeiros meses em nascidos termo e pré-termo

A tabela 2 apresenta os valores de latência no primeiro e terceiro mês de vida e as respectivas comparações entre os grupos. É possível evidenciar que os valores de latência do componente P1 foram maiores no primeiro mês ($p<0,001$), independente da frequência avaliada e o grupo. Além disso, os valores de latência do grupo de nascidos pré-termo foram maiores quando comparadas com o grupo de nascidos a termo, independente da frequência e o momento de avaliação ($p<0,001$).

Tabela 2: Comparação dos valores de latência do componente P1 para as diferentes frequências testadas e entre os grupos

Fator		Tabela 2										p-valor	Teste Bonferroni
		Frequência											
		500 Hz		1000 Hz		2000 Hz		4000 Hz					
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP				
Momento	1mês	235.90	37.00	237.52	43.29	227.28	29.11	263.66	61.94	<0.001*	1mês > 3mês		
	3mês	204.29	37.65	220.14	40.87	213.51	42.40	216.03	46.74	<0.001*	Pré-termo > Termo		
Grupo	Termo	214.71	40.70	208.65	30.37	213.44	33.60	221.56	51.91	0.276			
	Pré-termo	223.03	40.09	249.97	44.10	226.90	40.56	255.80	61.60	0.008*	4000Hz > 500Hz		
Momento	1mês *	233.06	38.66	221.12	25.93	229.94	29.44	245.88	56.08	0.047*	1mês 1000Hz > 3mês 500Hz; 1mês 4000Hz > 1mês 2000Hz. 3mês500Hz. 3mês 1000Hz. 3mês 2000Hz. 3mês 4000Hz		
* Grupo	1mês * Pré-termo	239.92	35.78	260.75	52.80	223.50	29.51	288.83	63.33	0.038*	Pré-termo 1000Hz > Termo 500Hz. Termo 1000Hz. Termo 2000Hz; Pré-termo 4000Hz > Termo 500Hz. Termo 1000Hz. Termo 2000Hz. Pré-termo 500Hz		
Momento	3mês*	196.35	34.71	196.18	29.99	196.94	29.71	197.24	33.99	0.447			
* Grupo	3mês* Pré-termo	211.78	39.72	242.78	37.11	229.17	47.22	233.78	50.94				

Legenda: *Teste ANOVA e Bonferroni; DP: desvio padrão; Nível de significância adotado: $p \leq 5\%$

A tabela 3 evidencia que os valores de amplitude do componente P1 foram maiores no terceiro mês de vida quando comparados ao primeiro mês de vida, independente da frequência e grupo avaliado ($p < 0,001$).

Tabela 3: Comparação dos valores de amplitude do componente P1, de acordo com a frequência, momento e grupo avaliado

Fator		Frequência								Efeito	P-valor	Bonferroni
		500 Hz		1000 Hz		2000 Hz		4000 Hz				
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP			
Momento	1mês	6.97	3.18	7.91	3.71	6.81	2.92	5.78	2.92	Momento	<0,001*	3mês > 1mês
	3mês	8.89	3.95	9.21	4.30	9.44	4.99	10.24	5.56	Grupo	0.186	
Grupo	Termo	7.60	3.72	8.11	4.10	7.89	4.30	7.21	3.79	Momento * Grupo	0.786	
	Pré-termo	8.49	3.73	9.20	4.02	8.65	4.46	9.37	6.04	Frequência	0.762	
Momento * Grupo	1mês * Termo	6.27	2.99	7.60	3.95	6.78	2.76	5.56	2.45	Frequência * Momento	0.067	
Momento * Grupo	1mês * Pré-termo	7.95	3.30	8.36	3.45	6.84	3.25	6.10	3.58	Frequência * Grupo	0.824	
Momento * Grupo	3mês * Termo	8.93	3.98	8.63	4.29	9.01	5.27	8.86	4.22	Frequência * Momento * Grupo	0.472	
Momento * Grupo	3mês * Pré-termo	8.85	4.04	9.77	4.36	9.85	4.82	11.55	6.44			

Legenda: *Teste ANOVA e Bonferroni; DP: desvio padrão; Nível de significância adotado: $p \leq 5\%$.

4. DISCUSSÃO

A utilização dos potenciais evocados auditivos corticais para obtenção dos níveis mínimos de respostas eletrofisiológicas tem sido relatada em crianças e em adultos, como método auxiliar no diagnóstico audiológico, principalmente nos casos em que não é possível obter respostas

consistentes nos potenciais evocados auditivos de curta latência, como na neuropatia auditiva e nos casos de alterações neurológicas, porém carece de informações em crianças muito pequenas, como nos neonatos.

Nesse estudo foi possível obter os níveis mínimos de respostas corticais em neonatos nascidos a termo e pré-termo. A média dos valores foi de 26; 26,14; 29; e 29,43dBnNA para os nascidos a termo e de 31,96; 34,13; 33,64 e 37,73dBnNA para os nascidos pré-termo, para as frequências de 500, 1000, 2000 e 4000Hz, respectivamente. A comparação desses valores com um estudo realizado no mesmo ambulatório e com o mesmo equipamento, com indivíduos adultos com audição normal (DURANTE *et al.*, 2017), evidencia diferenças nos níveis mínimos de respostas entre os neonatos do presente estudo e os adultos do estudo citado. Os pesquisadores descreveram valores médios de 18,23dBNA para 500Hz, 15,9dBNA para 1000Hz, 15,97dBNA para 2000Hz e 17dBNA para 4000Hz. Essas diferenças na comparação dos neonatos, tanto dos nascidos a termo quanto pré-termo, do presente estudo, com os adultos do estudo citado, corroboram com a afirmação e constatação de que o processo de mielinização e eficácia das sinapses influenciam nas respostas dos potenciais corticais, sendo que cada faixa etária possui respostas características em função do processo maturacional (SHARMA, KRAUS, MCGEE, 1997; WUNDERLICH, CONE-WESSON, 2006).

Na comparação entre os grupos, evidenciou-se diferenças estatisticamente significantes para a maioria das frequências (500, 1000 e 4000Hz) quando avaliado o nível mínimo de resposta cortical, sendo as mesmas maiores para o grupo de pré-termos. Esses resultados são esperados devido às diferenças maturacionais entre os grupos. Estudo de metanálise (STIPDONK *et al.*, 2016) demonstrou existir diferenças no desenvolvimento das vias auditivas de nascidos a termo e pré-termo em nível de tronco encefálico. Dessa forma, sugere-se que essa imaturidade se estenda ao nível central, o que refletiu no nível mínimo de resposta cortical mais elevado nesse grupo, mesmo considerando a idade corrigida.

Nesse estudo também foi possível verificar a maturação da via auditiva central em nascidos termos e pré-termos durante os três primeiros meses de vida por meio do potencial cortical P1, corroborando com a literatura científica, a qual evidencia que esse potencial pode ser considerado um biomarcador neurofisiológico (SHAFFER *et al.*, 2015; ROMERO *et al.*, 2020; CAVALCANTI *et al.*, 2020).

A partir dos resultados descritos observou-se decréscimo nos valores de latência do componente P1 do primeiro ao terceiro mês de vida em ambos os grupos. Esse resultado também corrobora com outros estudos, os quais referem que o componente P1 é o principal visualizado no traçado infantil e que os valores de latência diminuem conforme a maturação das estruturas auditivas centrais (SHAFFER *et al.*, 2015; CAVALCANTI *et al.*, 2020), refletindo principalmente a maturação do córtex auditivo temporal (WAGNER *et al.*, 2015).

Apesar do decréscimo nos valores de latência do componente P1, a maturação das estruturas auditivas centrais foi diferente para os grupos do presente estudo, já que os valores de latência foram maiores para o grupo de nascidos pré-termo. Esses resultados sugere uma maturação mais lenta para esse grupo, na faixa etária avaliada, apesar da correção da idade. Tais resultados vêm ao encontro de outro estudo, o qual evidenciou alterações nos potenciais corticais de nascidos pré-termo durante esse período de maturação da via auditiva (PAQUETTE *et al.*, 2015). Esse resultado também corrobora com outra pesquisa, na qual os autores verificaram diferenças nas latências dos potenciais corticais em nascidos pré-termo durante o primeiro e terceiro mês de avaliação (PASMAN *et al.*, 1992). Outro estudo (STIPDONK *et al.*, 2016) também relata alterações na via auditiva central de nascidos pré-termo. Em contrapartida, um estudo recente (CAVALCANTI *et al.*, 2020) não verificou diferenças no potencial cortical P1 em nascidos termos e pré-termos avaliados durante os três primeiros meses de vida, sugerindo rápida maturação cortical dos nascidos pré-termo.

Em relação a amplitude do potencial P1, não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre os grupos durante o primeiro e terceiro mês de vida. Aumento de amplitude foi observado em ambos os grupos, conforme maturação da via auditiva. Esses resultados são similares a outro estudo (SHAFFER *et al.*, 2015), o qual evidenciou aumento na amplitude, refletindo maior recrutamento neuronal. Além disso, os valores de amplitude não diferiram entre os grupos. Acredita-se que esse resultado possa ser em decorrência da variabilidade dos valores obtidos. Dessa forma, a latência foi o parâmetro mais confiável para avaliar a maturação do sistema auditivo central.

A partir dos resultados descritos, pode-se evidenciar que a maturação do sistema nervoso central influencia diretamente no nível mínimo de resposta do potencial evocado cortical. A obtenção dos níveis mínimos de respostas nessa população é possível, mas requer cuidado na interpretação devido à imaturidade neurológica, principalmente nos nascidos pré-termo, já que existe grande variação em dBnNA do nível de resposta encontrado. Além disso, foi possível verificar a maturação das estruturas auditivas centrais durante os três primeiros meses de vida, sugerindo, diferenças na velocidade maturacional em nível central em nascidos pré-termo e a termo.

5. CONCLUSÃO

Foi possível obter o nível mínimo de resposta cortical em neonatos nascidos a termo e pré-termo, sendo os resultados diferentes entre os grupos, com valores maiores para os nascidos pré-termo. Ainda, a maturação do sistema auditivo central nos três primeiros meses foi observada em ambos os grupos, porém com resultados diferentes, sendo a latência do potencial P1 maior para o grupo de nascidos pré-termo.

REFERÊNCIAS

- ALANAZI, A. A. *et al.* **The hearlab cortical tone evaluation (cte) protocol: a clinical feasibility study.** J. Hear. Sci., v. 6, n. 3, p. 54-62, Jan. 2017.
- ALMEQBEL, A. **Speech evoked cortical auditory responses in children with normal hearing.** S. Afr. J. Commun. Disord., v.60, p. 1-23, Dec. 2013.
- BARDY, F. *et al.* **The cortical automatic threshold estimation in adults.** Hear. J., v. 69, n. 6, p. 32-37, Jun. 2016.
- BRAZELTON, T.B. **Neonatal behavioral assessment scale.** London: Heinemann Medical; 1973. (Clinics in developmental medicine series, 50).
- BRITISH SOCIETY OF AUDIOLOGY. **Recommended procedure – cortical auditory evoked potential (CAEP) testing.** 2016. p. 37.
- CAVALCANTI, H.G.; NUNES, A.D.S.; CUNHA, B.K.S., ALVARENGA, K.F., BALEN, A.S., PEREIRA, A. **Early exposure to environment sounds and the development of cortical auditory evoked potentials of preterm infants during the first 3 months of life.** BMC. Res. Notes., v. 13, n. 303, p.1-7, 2020.
- CHANG, H. W. *et al.* **The relationship between cortical auditory evoked potential (CAEP) detection and estimated audibility in infants with sensorineural hearing loss.** Int. J. Audiol., v. 51, n. 9, p. 663-670, Sep. 2012.
- CONE, B. K.; WHITAKER, R. **Dynamics of infant cortical auditory evoked potentials (CAEPs) for tone and speech tokens.** Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol., v. 77, n. 7, p. 1162-1173, Jul. 2013.
- DUN, V.; CARTER, L.; DILLON, H. **Sensitivity of cortical auditory evoked potential detection for hearing-impaired infants in response to short speech sounds.** Audiol. Res., v. 2, n. 1, p. 65-76, Aug. 2012.
- DURANTE, A.S.; WIESELBERG, M.B.; ROQUE, N.; CARVALHO, S.; PUCCI, B.; GUDAYOL, N. *et al.* **Assessment of hearing threshold in adults with hearing loss using an automated system of cortical auditory evoked potential detection.** Braz. J. Otorhinolaryngol., v. 83, p. 147-154, 2017.
- HE, S. *et al.* **Objective Hearing Threshold Estimation in Children with Auditory Neuropathy Spectrum Disorder.** Laryngoscope., v. 123, n. 11, p. 2859-2861, Nov. 2013.
- HOVEL, H. *et al.* **Auditory event related potentials are related to cognition at preschool age after very preterm birth.** Pediatric. Res., v. 77, n. 4, p. 570-578, Apr. 2015.
- JOINT COMMITTEE ON INFANT HEARING. **Year 2007 Position statement: principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs.**

Pediatrics, v. 120, n. 4, p. 898-921, Oct. 2007.

KOSANER, J. *et al.* **Clinically recorded cortical auditory evoked potentials from paediatric cochlear implant users fitted with electrically elicited stapedius reflex thresholds.** Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol, v. 108, p. 100-112, 2018.

KUSHNERENKO, Elena.V. **Maturation of the cortical auditory eventrelated brain potentials in infancy.** 97 f. Academic dissertation - Department of Psychology, University of Helsinki Finland, Helsinki, 2003.

LEWIS, D. R. *et al.* **Comitê Multiprofissional em saúde auditiva – COMUSA.** Braz. J. Otorhinolaryngol, v. 76, n. 1, p. 121-8, 2010.

MAITRE, N.L. *et al.* **Cortical speech sound differentiation in the neonatal intensive care unit predicts cognitive and language development in the first 2 years of life.** Dev. Med. Child. Neurol., v. 55, n. 9, p. 834-839, Sep. 2013.

MATAS, C. G.; MAGLIARO, F. C. L. **Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico.** In: BOÉCHAT, E. M. *et al.* Tratado de Audiologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 118-125.

OLIVEIRA, Lilian Sanches. **Potencial evocado auditivo cortical automatizado na avaliação audiológica infantil.** 82 f. Dissertação (Mestrado) – Programa Saúde da Comunicação Humana, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 2016.

PAQUETTE, N. *et al.* **Early electrophysiological markers of atypical language processing in prematurely born infants.** Neuropsychologia., v. 79, p. 21-32. Dec. 2015.

PASMAN, J.W. *et al.* **The effect of preterm birth on brainstem, middle latency and cortical auditory evoked responses (BMC AERs).** Early. Hum. Dev., v. 31, n. 2, p. 113-129, Dec. 1992.

RIBEIRO, F. M.; CARVALLO, R. M.; MARCOUX, A. M. **Auditory steady-state evoked responses for preterm and term neonates.** Audiol. Neurotol., v. 15, n. 2, p. 97-110, 2010.

ROMERO, A.C.L.; FRIZZO, A.C.F.; CHAGAS, E.F.B., ISAAC, M.L. **Cortical auditory evoked potentials in babies and children listeners.** Braz. J. Otorhinolaryngol., v. 86, n. 4, p. 395-404, 2020.

SHAFFER, V. L.; YU, Y. H.; WAGNER, M. **Maturation of cortical auditory evoked potentials (CAEPs) to speech recorded from frontocentral and temporal sites: three months to eight years of age.** Int. J. Psychophysiol., v. 95, n. 2, p. 77-93, Feb. 2015.

SHARMA, A. *et al.* **Developmental changes in P1 and N1 central auditory responses elicited by consonant-vowel syllables.** Clin. Neurophysiol, v. 104, n. 6,

p. 540-545, Nov. 1997.

SHARMA, A.; DORMAN, M. F.; SPAHR, A. J. **A Sensitive Period for the Development of the Central Auditory System in Children with Cochlear Implants: Implications for Age of Implantation.** Ear. Hear., v. 23, n. 6, p. 532-539, Dec. 2002a.

SHARMA, A.; KRAUS, N.; MCGEE, T.J.; NICOL, T.G. **Developmental changes in P1 and N1 central auditory.** Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., v. 104, p. 540-545, 1997.

STIPDONK, L.W.; WEISGLAS-KUPERUS, N.; FRANKEN, M.C.J.; NASSERINEJAD, J.; DUDINK, A. **Auditory brainstem maturation in normal-hearing infants born preterm: a metaanalysis.** Dev. Med. Child. Neurol, v. 58, p. 1009-1015, 2016.

SUPPIEJ, A. *et al.* **Neonatal Cortical Auditory Evoked Potentials Are Affected by Clinical Conditions Occurring in Early Prematurity.** J. Clin. Neurophysiol., v. 32, n. 5, p. 419-423. 2015.

WAGNER, M.; ROYCHOUDHURY, A.; CAMPANELLI, L.; SHAFER, V.L.; MARTIN, B.; STEINSCHNEIDER, M. **Representation of spectro-temporal features of spoken words within the P1-N1-P2 and T-complex of the auditory evoked potentials (AEP).** Neurosci. Lett., v. 12, n. 614, p. 119-26, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Born Too soon – The Global Action Report on Preterm Birth.** 2012. p. 126.

WUNDERLICH, J. L.; CONE-WESSON, B. K. **Maturation of CAEP in infants and children: A review.** Hear. Res., v. 212, n. 1-2, p. 212-223, Feb. 2006.

CORTICAL AUDITORY EVOKED POTENTIAL IN TERM AND PRETERM

ABSTRACT - Introduction: The use of P1 cortical auditory evoked potential in children stands out for verification of auditory maturation and research of minimum levels cortical responses. Objective: To study and compare P1 cortical auditory evoked potential in term and preterm newborns and infants. Methodology: The sample consisted of 66 newborns during the first month of life and 37 infants during the third month of life. Of these, 41 were born at term and 25 preterm. In the first month of life, the minimum levels of cortical responses for frequencies from 500 to 4000Hz were investigated. In addition, the maturation of the central auditory pathway in term and preterm births was verified during the first three months of life, through the P1 cortical potential investigated at 80dBnHL for frequencies from 500 to 4000Hz. The Hearlab System equipment was used, and the responses were automatically detected by the equipment and analyzed by judges. Results: In the research of the minimum level of cortical response during the first month of life, newborns born at term showed better responses when compared to those born preterm. In addition, the preterm newborns in this research showed maturation delay, as evidenced by the higher latency of P1 during the first three months of life when compared to those born at term. Conclusion: The minimum level of cortical response was greater for preterm infants during the

first month of life, and the latency of the P1 potential was greater for preterm infants evaluated until the third month of life.

KEYWORDS: Evoked potentials; Auditory; Child development; Infant; Infant; premature.

O USO DE LUTEÍNA E ZEAXANTINA COMO CORANTES INTRAOCULARES PARA CIRURGIA OFTALMOLÓGICA

Diogo Sousa-Martins

lattes.cnpq.br/3542269820453621

Universidade Federal de São Paulo

RESUMO - Foi estudada a segurança e eficácia de formulações intraoculares contendo Luteína e Zeaxantina, isolada ou combinada com Azul Brilhante ou Azul de Trypan em cirurgia de catarata e vitreorretiniana. Soluções-corantes contendo óleo de rícino polietoxilado (Cremophor EL™) como veículo, não apresentam afinidade corante para a Cápsula Anterior, Vítreo, Hialóide Posterior, Membrana Limitante Interna e Membrana Epirretiniana. Adicionalmente, as soluções contendo Cremophor EL™ mostraram-se citotóxicas. Pelo contrário, soluções-corantes contendo álcool polivinílico como veículo mostraram-se eficazes e seguras. Os testes de eficácia em olhos cadavéricos mostraram apenas cinco formulações (sem Cremophor EL™) que coraram o vítreo menos de +++/4. Quanto à Cápsula Anterior e Membrana Limitante Interna, apenas a formulação de Luteína e Zeaxantina a 0,5% associada a Azul de Trypan a 0,04%; e a Luteína e Zeaxantina a 0,3% associada a Azul Brilhante

a 0,025% atingiram a máxima coloração com os níveis mais baixos de Azul de Trypan e Azul Brilhante. O estudo de toxicidade intravítrea mostrou que nenhuma formulação testada exibe toxicidade “in-vivo” no vítreo e retina. As soluções-corantes Luteína e Zeaxantina a 0,3%-1% associada a Azul Brilhante a 0,025% e Luteína e Zeaxantina a 0,5%-1% associada a Azul de Trypan a 0,04%, ambas em álcool polivinílico, foram as melhores fórmulas em termos de estabilidade, pH e osmolaridade. Estas formulações atingiram os melhores resultados na coloração da Cápsula Anterior, Vítreo e Membrana Limitante Interna de olhos humanos cadavéricos. As soluções-corantes à base de Luteína e Zeaxantina poderão ser uma alternativa segura e eficaz em cirurgia de catarata e vitreorretiniana.

PALAVRAS-CHAVE: Azul; Brilhante; Cápsula; Cromovitrectomia; Corante; Membrana limitante interna; Luteína; Segurança; Vítreo; Zeaxantina.

1. INTRODUÇÃO

A cirurgia ocular é um dos ramos da cirurgia que testemunhou profundos e importantes avanços nos últimos anos. Procedimentos

de cirurgia ocular estão se tornando cada vez mais complexos, ainda que a recuperação esteja cada vez mais rápida e eficiente.

Acirurgia de catarata e vitreorretiniana são exemplos de procedimentos importantes, dos quais depende a qualidade de vida de milhares de pacientes.

De forma a contribuir para o sucesso destas cirurgias, usa-se substâncias corantes, que identificam estruturas intraoperatórias a serem removidas.

Controvérsias sobre a necessidade e situações de uso dos corantes têm sido debatidas na literatura, à medida que se desenvolvem novas substâncias com melhores perfis de toxicidade e eficácia.

2. CAPSULOTOMIA EM CIRURGIA DE CATARATA

A criação da capsulotomia circular contínua, introduzida por Gimbel e Neuhann em 1990, na cápsula anterior (CA) do cristalino, é considerada uma etapa crítica na cirurgia de catarata. Para um bom controle da mesma, a visualização da aba da CA é essencial assim, melhorar a visualização da CA pode ser de grande valor.

Em 1993, Hoffer *et al.*, publicaram um relato de caso do uso da fluoresceína em catarata madura para melhorar a sua visualização. Desde então, o uso de outros corantes e técnicas para melhorar a visualização desta durante a cirurgia de catarata vêm sendo relatados.

Os corantes que receberam as maiores atenções foram: Indocianina Verde (ICV), azul de Trypan (AT), Fluoresceína, Violeta Cristal e Violeta Genciana. Desses cinco corantes disponíveis na literatura, somente três (ICV, fluoresceína e AT) foram aprovados pelo “Food and Drug Administration” (FDA) nos Estados Unidos da América. De igual forma, somente o AT está aprovado para uso na cirurgia de catarata.

3. VITRECTOMIA EM CIRURGIA VITREORRETINIANA

A vitrectomia via pars plana, introduzida na década de 70 por Machemer, inicialmente era indicada apenas para casos complicados de descolamento da retina com a presença de proliferação vitreorretiniana. Já na década de 80, com o aperfeiçoamento dos aparelhos e da técnica, o termo “vitrectomia primária” foi introduzido por Klöti em 1983, e ganhou mais força, tornando a cirurgia vitreorretiniana mais segura, reprodutível e previsível.

A vitrectomia consiste na retirada do gel intraocular vítreo alterado, na remoção de membranas pré-retinianas, e restabelecimento do volume ocular com SSB (Solução Salina Balanceada), gases, ou óleo de silicone.

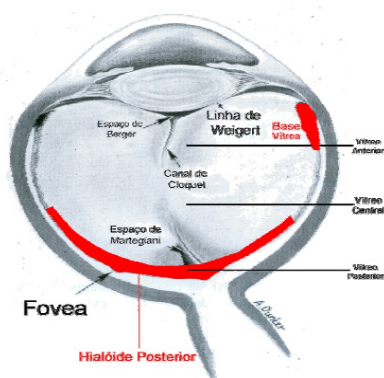
O termo cromovitrectomia foi introduzido em 2000, quando foi descrito que a ICV se mostrou capaz de corar a membrana limitante interna (MLI). Dados clínicos e experimentais, porém, mostraram um potencial de toxicidade retiniana que estimulou o aumento de pesquisa neste campo.

3.1 Vítreo

Trata-se de estrutura anatômica fundamental para a cromovitrectomia, sendo removido durante este procedimento. É composto por ácido hialurônico e glicoproteínas, sendo mais aderido à retina na base vítrea, nos vasos retinianos.

Ao ser removido, o Vítreo é substituído por SSB. O conhecimento anatômico dos seus pontos de adesão principais, bem como sua anatomia microscópica e a adesão do Vítreo posterior são fundamentais para o cirurgião vitreoretiniano (Figura 1).

Figura 1: O Vítreo apresenta divisão em: vítreo anterior, central e posterior ou hialóide posterior. Há aderências importantes do vítreo na base vítrea e no hialóide posterior



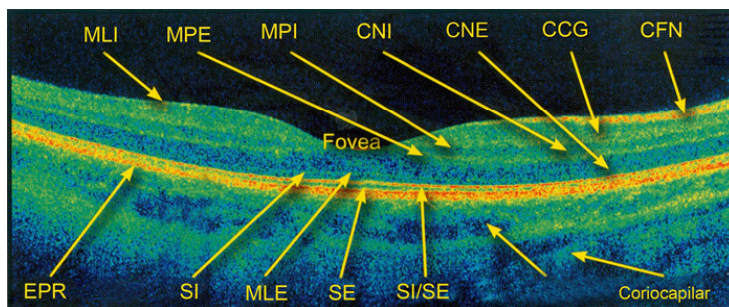
Fonte: GREEN *et al.*, (1995)

A remoção da Hialóide Posterior (HP) é um dos pontos principais e mais difíceis da vitrectomia, (Figura 1) portanto, a cromovitrectomia torna o procedimento mais exequível.

3.2 Membranas Vitrinianas

A retina é composta por dez camadas celulares, sendo a camada mais interna a MLI. Atualmente, o exame da tomografia de coerência óptica (OCT) permite a realização de um corte histológico da retina “in-vivo” (Figura 2). Esta tecnologia facilita a identificação de anormalidades anatômicas como edema na retina, e em especial, a observação da interface vitreoretiniana e subsequente identificação da MLI.

Figura 2: Tomografia de coerência óptica das camadas retinianas



Legenda: MLI: membrana limitante interna; MPE: membrana plexiforme externa; MPI: membrana plexiforme interna; CNI: camada nuclear interna; CNE: camada nuclear externa; CCG: camada de células ganglionares; CFN: camada de fibras nervosas; EPR: epitélio pigmentado da retina; SI: segmentos internos; MLE: membrana limitante externa; SE: segmentos externos; SI/SE: segmentos internos/externos. Fonte: *et al.*, MAIA (2009)

Como ambas as estruturas - MER e MLI - são extremamente delgadas, muitas vezes é difícil para o cirurgião ter a certeza de qual estrutura está sendo manipulada.

4. CROMOVITRECTOMIA

4.1 História do Uso de Corantes Vitais na Cirurgia de Catarata e Vitreorretiniana

O desenvolvimento de corantes influenciou muito a Medicina antiga e a moderna. Por exemplo, antes do século XIX, os neuroanatomistas usaram corantes químicos para tingir e definir discretas áreas fisiológicas. No ano de 1906, foram introduzidos pela primeira vez meios de contraste no campo da radiologia. O uso de agentes de contraste ganhou mais popularidade nas últimas décadas, pois eles permitiram a observação exata e detalhada de tecidos doentes em seres vivos.

Na oftalmologia, os corantes são usados como agentes adjuntos para diagnósticos. Por exemplo, o corante de fluoresceína pode identificar áreas epiteliais lesionadas durante ocorrência de defeitos epiteliais corneanos, enquanto o rosa bengala pode tingir sobras celulares e restos de células epiteliais danificadas.

No campo do diagnóstico retiniano, a fluoresceína sódica e a ICV podem ser injetadas endovenosamente para observação e contraste de vasos sanguíneos e tecidos.

Assim, a cromovitrectomia surgiu devido à dificuldade na observação de vários tecidos finos e transparentes na interface vitreorretiniana, como a

MLI, MER.

Lobeck *et al.*, (1932) executaram a primeira aplicação intravítrea de corantes vitais para identificar estruturas pré-retinianas em 1932. Desde então, inúmeros pesquisadores analisaram a utilização de corantes através da via endovenosa, subretiniana, e intravítrea para identificar tecidos e estruturas vitreoretinianas. Um trabalho realizado por Kutschera, em 1969, mostrou que, entre vários corantes, o Azul Patente forneceu excelente reconhecimento de tecidos retinianos quando injetado dentro do vítreo.

Mais tarde, Burk *et al.*, descreveram em 2000 o uso de ICV como corante eficaz para a MLI. Há um consenso geral de que a remoção da MLI assistida pelo corante ICV é tecnicamente mais fácil, uma vez que o cirurgião consegue identificar facilmente as margens durante a réxis da MLI. No entanto, estudos clínicos demonstrarem complicações clínicas pós operatórias relacionadas ao uso de ICV. O efeito nocivo de ICV motivou a comunidade científica a pesquisar corantes vitais menos tóxicos.

O AT e o AP surgiram como alternativas para a ICV. No entanto, a aceitação destes corantes tem sido limitada, pois ambos possuem baixa afinidade química pela MLI, e não apresentam indicadores precisos de biosegurança em seu uso.

Posteriormente, a Triancinolona Acetonida (TA) foi introduzida como corante alternativo para a cromovitrectomia, por facilitar a identificação do vítreo e fornecer contraste com a MLI, pela deposição de seus cristais na superfície da mesma.

Mais recentemente foi iniciado o uso do corante infracianina verde (IfCV), com propriedades semelhantes ao ICV, porém não contém iodo em sua composição, o que o torna menos tóxico à retina humana.

Até o momento não há um corante ideal que promova ao mesmo tempo um bom contraste para as estruturas pré-retinianas e não tenha toxicidade retiniana. Recentemente, alguns grupos de pesquisa divulgaram seus resultados preliminares acerca de novos corantes vitais para a cromovitrectomia, indicando conclusões favoráveis ao uso dos corantes vitais AB e azul de bromofenol.

4.2 Biocompatibilidade Retiniana

Os experimentos de pesquisa de novos corantes devem demonstrar uma alta biocompatibilidade sem efeitos nocivos à retina no meio intraocular. A coloração e características de segurança de seis novos corantes potenciais para cirurgia intraocular foram recentemente descritos, incluindo o verde brilhante, azul de bromofenol, azul de evans e rodamida nas concentrações de 0,2% e 0,02%.

Rodrigues *et al.*, (2008) demonstraram que se observou boa biocompatibilidade da retina com 0,05% de AB em olhos de coelhos; porém,

foram observados também efeitos danosos nos fotorreceptores. Esses resultados antagônicos dificultam afirmar se o AB, é um agente seguro. Sugere-se que, mesmo com o uso do AB (com perfil de toxicidade menor que a ICV), sejam tomados cuidados em se evitar a injeção do corante diretamente sobre o EPR.

Experimentos pré-clínicos demonstraram que, dentre seis corantes, o azul de bromofenol corou melhor a MER e MLI, e não induziu nenhuma lesão “in-vitro” tanto para células ARPE-19 ou células do EPR em concentrações de 0,2% e 0,02%.

Estudos posteriores “in-vitro” em olhos de ratos e porcos demonstraram que o azul de bromofenol, em concentrações de 0,5% e 0,02%, não promoveu toxicidade significativa.

Em contraste a esses estudos, foi demonstrado, que o azul de bromofenol provocou uma toxicidade significativa na retina. Estes diferentes resultados podem ser explicados pelos diferentes modelos de animais utilizados ou por fatores bioquímicos.

Para aplicação em cromovitrectomia, Haritoglou *et al.*, (2005) pesquisaram a toxicidade do Verde Brilhante” in-vitro”, em geral não encontrando efeitos tóxicos; no entanto, a viabilidade celular foi afetada em altas doses.

Em conclusão, novos corantes podem ser tóxicos aos tecidos da retina de coelhos, dependendo do tipo e da dose aplicada.

4.3 Técnicas Cirúrgicas para Aplicação Intraoperatória

Várias técnicas cirúrgicas foram usadas para injetar corantes na cavidade vítrea durante a cromovitrectomia. É importante descrever como a cavidade vítrea deve ser preenchida no sentido de evitar a dispersão excessiva do corante.

Assim, independente da técnica utilizada, deve-se evitar o contato da ICV com o EPR.

5. CORANTES VITAIS

5.1 Generalidades

Quando os corantes coram tecidos ou células vivas, são chamados de corantes vitais e são adjuvantes em cirurgias oftalmológicas para melhorar a visualização de tecidos oculares.

Os corantes vitais podem ser classificados segundo o seu pH, solubilidade, fonte, e propriedades de tingimento e podem ser apresentados segundo sua classificação química:

- i. Corantes Azo

- ii. Corantes de Tiazina
- iii. Corantes de Arilmetano
- iv. Corantes de Cianinas
- v. Corantes de Xantenos
- vi. Corticóides
- vii. Xantofilas

6 RESUMO DOS PRINCÍPIOS E INDICAÇÕES

Na técnica de cromovitrectomia, a TA é o padrão para identificação do Vítreo; a ICV, a IfCV e o AB são os corantes de escolha para a identificação da MLI e o AT é o padrão para MER e CA (tabela 1).

Tabela 1: Substâncias utilizadas atualmente para a cromovitrectomia

Substância	Diluição/Dose Osmolaridade	Afinidade Intraocular	Técnicas para se evitar toxicidade ao EPR	Propriedades Químicas
Triancinolona Acetonida 40mg/mL (4%) Cristais	Sem Diluição	Vítreo	Usar uma solução sem preservativo	Esteróide não-solúvel (C24H3FO6; 434 daltons)
Azul de Trypan 1,2mg/mL (0,12%)	Sem Diluição ou misturar com glicose 1,2mg/mL (0,12%) 310 mOsm/L	MER	Usar sem diluição ou misturar 0,3mL com 0,1mL de glicose 5% para melhorar identificação da MER	Corante hidrofílico aniônico Azo (C34H24N6Na4O14S) 960 daltons)
Azul Patente 2,5mg/mL (0,25%)	Sem diluição ou misturar com glicose 2,5mg/mL (0,25%) 290mOsm/L	MER	Usar sem diluição ou misturar 0,3 mL com 0,1mL de glicose 5% para melhorar identificação da MER	Triarilmetano (C27H31N2NaO6S2); 582 daltons)
Azul Brilhante 0,25mg/mL (0,025%) ou 0,5mg/mL (0,05%)	Sem diluição 280mOsm/L	MLI	Usar sem diluição	Corante azul aniônico aminotriaril metano (C47H48N3S2O7Na; 854daltons
Indocianina Verde 5mg (0,5%)	5mg (0,5%)	MLI	Adicionar 1mL de água destilada a 1 frasco de 5mg. Retirar 0,1mL dessa solução e misturar com 0,9mL de SSB	Corante tricarbocianínico (C43H47N2NaO6S2; 775 daltons) e contém 3 a 5% de iodo
Infracianina Verde 5mg (0,5%)	5mg (0,5%) dissolver em glicose 5% 290 mOsm/L	MLI	Adicionar 1 ou 2mL de glicose 5% a 1 frasco de 25mg	Mesma fórmula química da Indocianina Verde mas não contém iodo na sua formulação

Fonte: MARTINS *et al.*, (2013)

7. FACOVITRECTOMIA

Pacientes que apresentam patologias cirúrgicas da retina e vítreo frequentemente também apresentam cataratas. Nestes casos, a cirurgia combinada (facoemulsificação e vitrectomia “via pars plana”) pode ser considerada em casos selecionados.

A remoção da catarata no mesmo procedimento é indicada em casos nos quais se necessita obter uma melhor observação de detalhes do polo posterior, quando se quer um acesso e remoção mais amplos da base vítrea e também para se evitar a formação de catarata subsequente à cirurgia. Após

a introdução da vitrectomia via “pars plana” por Machemer e Kasner nos anos 70, a extração da catarata no mesmo procedimento passou a ser uma opção considerada.

Nos anos seguintes, Peyman *et al.*, (1975) desenvolveram as técnicas de remoção da catarata através de incisões na córnea ou na “pars plana”. Essa técnica tinha a vantagem de evitar as grandes incisões, que causavam vazamentos e deiscência da sutura.

8. DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO INTRAOCULAR

Este estudo, realizado no Departamento de Oftalmologia da Universidade Federal de São Paulo e com o apoio da Ophthalmos SA, apresenta um desenho experimental de investigação laboratorial em tecnologia farmacêutica.

Este estudo tem o objetivo de desenvolver soluções ou dispersões líquidas de corantes à base de L/Z, isolada ou em combinação com AB ou AT, para uso posterior nas fases subsequentes do projeto em cirurgia de catarata e vitreorretiniana.

Com base na solubilidade da L/Z nos diferentes veículos testados, procedeu-se à formulação de diferentes misturas de L/Z - isolada ou combinada com outros corantes sintéticos – em diferentes combinações de veículos, agitação e aquecimento. Um total de setenta e oito formulações (F1 a F78) foram criadas e, em todas elas, foram analisados o pH, osmolaridade e cor final por colorimetria.

Tabela 2: Dados farmacotécnicos das formulações em Álcool Polivinílico a 1,4%.

Formulação	L/Z (%)	AB (%)	AT (%)	Tempo agitação (h)	Temperatura (°C)	Tempo Aquecimento (h)
F1	0,3	0,025	-	20	25	0
F2	0,3	-	0,1	20	25	0
F50	0,3	0,01	-	5	60	0,5
F51	0,15	-	0,05	5	60	0,5
F52	0,01	-	-	5	60	0,5
F53	0,05	-	-	5	60	0,5
F54	0,1	-	-	5	60	0,5
F55	0,2	-	-	5	60	0,5
F56	0,25	-	-	5	60	0,5
F57	0,5	-	-	5	60	0,5
F58	1	-	-	5	60	0,5
F59	2	-	-	5	60	0,5

F60	5	-	-	5	60	0,5
F61	10	-	-	5	60	0,5
F62	20	-	-	5	60	0,5
F63	0,1	0,0125	-	20	60	0,5
F64	0,2	0,0125	-	20	60	0,5
F65	0,5	0,0175	-	20	60	0,5
F66	1	0,025	-	20	60	0,5
F67	0,25	0,05	-	20	60	0,5
F68	0,2	0,025	-	20	60	0,5
F69	0,2	-	0,05	20	60	0,5
F70	0,3	-	0,05	20	60	0,5
F71	0,7	-	0,05	20	60	0,5
F72	0,5	-	0,075	20	60	0,5
F73	0,4	-	0,09	20	60	0,5
F74	1	-	0,04	20	60	0,5
F75	0,1	0,05	-	20	60	0,5
F76	0,1	0,1	-	20	60	0,5
F77	0,2	-	0,1	20	60	0,5
F78	0,3	-	0,025	20	60	0,5

% L/Z, %AB, %AT: porcentagem, respetivamente, de Luteína e Zeaxantina, Azul Brilhante e Azul de Trypan; °C: graus centígrados; h: horas

9. ESTUDO DE CITOTOXICIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR

Este estudo apresenta um desenho experimental de investigação laboratorial “in-vitro” e foi realizado no Departamento de Biologia da Universidade de Barcelona, com o apoio do grupo Cell Tec. O objetivo foi o de quantificar a citotoxicidade de quatro formulações-corantes produzidas no âmbito deste projeto.

Apenas 15 das 78 formulações (F59-70, F75 e F77-78) demonstraram valores de pH abaixo de 6. Por outro lado, apenas 2 (F15-16) das 78 formulações assumiram valores abaixo de 273 mOsm/Kg.

10. ESTUDO EM OLHOS CADAVERÍCOS

Para testar as 78 formulações, foram estudados 102 olhos cadavéricos obtidos a partir do Banco de Olhos do Hospital São Paulo. Demonstrou-se que as formulações que empregavam Cremophor EL™ não coravam nenhuma membrana nem estrutura.

Por outro lado, e sem contar com as formulações contendo Cremophor EL™ (F5-F49), apenas 5 formulações (F3, F52, F53, F56 e F67) coravam menos de +++/4 o Vítreo, tendo a maior parte das formulações testadas

corado +++/4 ou ++++/4.

11. ESTUDO DE TOXICIDADE EM COELHOS

Nos vinte e seis coelhos testados não foram observados casos de hemorragia vítrea, catarata ou endoftalmite, após oftalmoscopia indireta no tempo 0, 1 e 7 dias.

12. ESTUDO DE CITOTOXICIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR

12.1 Em células do epitélio pigmentado retiniano humano

Na linha de cultura celular ARPE-19, as diluições 1/15 e 1/30 da formulação C (L/Z 0,3%+AB0,025%) produziram uma redução estatisticamente significativa ($p<0,001$) na resposta metabólica celular após 24h, no modelo WST-1. As mesmas diluições (1/15 e 1/30) também inibiram significativamente ($p<0,001$) o crescimento celular “in vitro”, no modelo CVDE, de forma diretamente proporcional à concentração de corante e ao tempo de teste. As outras formulações testadas registraram variações inferiores a 10% do controle negativo.

12.2 Em células do epitélio corneano humano

Para a linha celular HCE, as alterações da atividade metabólica mitocondrial não excederam 15%. Todas as diluições da formulação C (L/Z 0,3% + AB 0,025%) inibiram significativamente ($p<0,001$) o crescimento celular “in vitro”, no modelo CVDE, de forma diretamente proporcional à concentração de corante principalmente às 72 horas. A CI50 desta formulação foi de 0,18 mg/mL L/Z + 0,015 mg/mL AB + 0,84 mg/mL APV.

13. CONCLUSÕES DOS ESTUDOS

13.1 Comportamento farmacotécnico de formulações corantes contendo Luteína e Zeaxantina para uso em cirurgia de catarata e vitreoretiniana:

O álcool polivinílico foi o melhor veículo para dispersar a Luteína e Zeaxantina e deve ser tamponado com tampão fosfato.

O Cremophor EL™ demonstradamente possui toxicidade celular.

É necessário fazer uma micronização do tamanho das partículas de cristal de Luteína e Zeaxantina antes de se produzir a formulação para uso intraocular.

A combinação de Luteína e Zeaxantina com Azul Brilhante ou Azul de Trypan, de acordo com o processo de produção, produz um corante final verde de pH e osmolaridade fisiologicamente aceitáveis.

13.2 Eficácia corante das formulações contendo Luteína e Zeaxantina nas membranas e estruturas relevantes para a cirurgia de catarata e vitreorretiniana:

A formulação Luteína e Zeaxantina a 1% associada a Azul de Trypan a 0,04% é a melhor formulação testada para corar a Cápsula Anterior, em termos de eficácia.

A Luteína e Zeaxantina em forma de cristal tem uma afinidade significativa para o Vítreo.

A formulação Luteína e Zeaxantina a 1% associada a Azul Brilhante a 0,025% foi a melhor para corar a Membrana Limitante Interna.

A formulação Luteína e Zeaxantina a 0,3% associada a Azul Brilhante a 0,025% foi a melhor para corar simultaneamente o Vítreo e a Membrana Limitante Interna.

13.4 Toxicidade intravítrea das formulações contendo Luteína e Zeaxantina em coelhos

Não se observaram alterações significativas no perfil eletrorretinográfico de olhos de coelhos injetados com soluções de Luteína e Zeaxantina versus estado basal e grupo controle.

Não se registraram alterações histológicas significativas ou sinais anatômicos de toxicidade nas camadas celulares retinianas, até 7 dias seguintes à injeção de formulações contendo Luteína e Zeaxantina.

13.5 Citotoxicidade e Proliferação Celular das formulações contendo Luteína e Zeaxantina em cultura celular corneana e retiniana:

Nenhuma das formulações testadas à base de Luteína e Zeaxantina revelou níveis estatisticamente significativos de citotoxicidade ou inibição da proliferação celular em células do epitélio corneano humano e do epitélio pigmentado retiniano humano.

REFERÊNCIAS

BROWN, S.M.; GRAHAM, W.A.; MCCARTNEY, D.L. (2004) **Trypan blue in pediatric cataract surgery**. J Cataract Refract Surg. 2004

BURK, M.; DA MATA, A.P.; SNYDER, M.E.; ROSA, R.H. JR; FOSTER, R.E. (2000) **Indocyanine green– assisted peeling of the retinal internal limiting membrane**. Ophthalmology. 2000

CHUNG, T.Y.; CHUNG, H., LEE, J.H. (2002) **Combined surgery and sequential surgery comprising phacoemulsification, pars plana vitrectomy, and intraocular lens implantation: comparison of clinical outcomes**. J Cataract Refract Surg. 2002

COSTA, E.F.; RODRIGUES, E.B.; FARAH, M.E.; DIB, E. (2009) **Vital Dyes and light sources for chromovitrectomy: comparative assessment of osmolarity, pH, and spectrophotometry.** Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009

DIB, E.; RODRIGUES, E.B.; MAIA, M.; MEYER, C.H.; PENHA, F.M.; FURLANI, B.A. (2011) **Corantes vitais em cromovitrectomia.** Arq Bras Oftalmol. 2009

FARAH, M.E.; MAIA, M.; RODRIGUES, E.B. (2009) **Dyes in ocular surgery: principles for use in chromovitrectomy.** Am J Ophthalmol. 2009

FARAH, M.E.; MAIA, M.; PENHA, F.M.; RODRIGUES, E.B. (2010) **The use of vital dyes during vitreoretinal surgery – chromovitrectomy.** Retinal pharmacotherapy. 2010.

FUNATA, M.; WENDEL, R.T.; DE LA CRUZ, Z.; GREEN, W.R. (1992) **Clinicopathologic study of bilateral macular holes treated with pars plana vitrectomy and gas tamponade.** Retina. 1992

GIMBEL, H.V.; NEUHANN, T. (1990) **Development, advantages and methods of continuous circular capsulorhexis technique.** J Cataract Refract Surg. 1990

GREE, W.R. (1981) **Pathology of the vitreous.** Lancaster course of ophthalmic histopathology. 1981.

HARITOGLOU, C.; YU, A.; FREYER, W.; PRIGLINGER, S.G.; ALGE, C.; EIBL, K. (2005) **An evaluation of novel vital dyes for intraocular surgery.** Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005

HENRICH, P.B.; HARITOGLOU, C.; MEYER, P.; FERREIRA, P.R.; SCHOTZAU, A.; KATAMAY, R. (2010) **Anatomical and functional outcome in brilliant blue G assisted chromovitrectomy.** Acta Ophthalmol. 2010

HOFFER, K.J.; MCFARLAND, J.E. (1993) **Intracameral subcapsular fluorescein staining for improved visualization during capsulorhexis in mature cataracts.** J Cataract Refract Surg. 1993

HORIGUCHI, M.; MIYAKE, K.; OHTA, I.; ITO, Y. (1998) **Staining of the lens capsule for circular continuous capsulorhexis in eyes with white cataract.** Arch Ophthalmol. 1998

HSUAN, J.D.; BROWN, N.A.; BRON, A.J.; PATEL, C.K.; ROSEN, P.H. (2001) **Posterior subcapsular and nuclear cataract after vitrectomy.** J Cataract Refract Surg. 2001

JACOBS, D.S.; COX, T.A.; WAGONER, M.D.; ARIYASU, R.G.; KARP, C.L. (2006) **Capsule staining as an adjunct to cataract surgery.** American Academy of Ophthalmology. 2006

LEE, S.B.; LEE, D.G.; KWAG, J.Y.; KIM, J.Y. (2009) **The effect of mydriatics on posterior synechia after combined pars plana vitrectomy, phacoemulsification,**

and intraocular lens implantation. Retina. 2009

LOBECK, Erich. Untersuchungen über die Bedeutung des Netzhauttrisses bei Netzhautablösung. **Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie**, v. 128, n. 4, p. 513-573, 1932.

MACHEMER, R. (1976) **Pars plana vitrectomy. Introduction.** Trans Sect Ophthalmol Am Acad Ophthalmol Otolaryngol. 1976

MACHEMER, R.; PAREL, J.M.; NORTON, E.W. (1972) **Vitrectomy: a pars plana approach. Technical improvements and further results.** Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol. 1972

MAIA, M.; FARAH, M.E.; BELFORT, R.N.; PENHA, F.M.; LIMA-FILHO, A.A.; AGGIO, F.B. (2007) **Effects of intravitreal triamcinolone acetate injection with and without preservative.** Br J Ophthalmol. 2007

MAIA, M.; KELLNER, L.; DE JUANE, E. JR; SMITH, R.; FARAH, M.E.; MARGALIT, E. (2004) **Effects of indocyanine green injection on the retinal surface and into subretinal space in rabbits.** Retina. 2004

MAIA, M.; MARGALIT, E.; LAKHANPAL, R.; TSO, M.O.; GREBE, R.; TORRES, G. (2004) **Effects of intravitreal indocyanine green injection in rabbits.** Retina. 2004

MAIA, M.; PENHA, F.M.; FARAH, M.E.; DIB, E.; PRINCIPE, A.; LIMA-FILHO, A.A. (2008) **Subretinal injection of preservative-free triamcinolone acetate and supernatant vehicle in rabbits: an electron microscopy study.** Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2008

MAIA, M.; PENHA, F.M.; RODRIGUES, E.B.; PRINCIPE, A.; DIB, E.; MEYER, C.H. (2007) **Effects of subretinal injection of patent blue and trypan blue in rabbits.** Curr Eye Res. 2007

MALERBI, F.K.; MAIA, M.; FARAH, M.E.; RODRIGUES, E.B. (2008) **Subretinal brilliant blue G migration during internal limiting membrane peeling.** Br J Ophthalmol. 2008

MEYER, C.H.; RODRIGUES, E.B. (2006) **A novel applicator for the selective painting of pre-retinal structures during vitreoretinal surgery.** Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2006

MICHELS, M.; LEWIS, H.; ABRAMS G.W.; HAN D.P.; MIELER W.F.; NEITZ, J. (1992) **Macular phototoxicity caused by fiberoptic endoillumination during pars plana vitrectomy.** Am J Ophthalmol. 1992

PENHA, F.M.; MAIA, M.; FARAH, M.E.; DIB, E.; PRINCIPE, A.H.; DEVIN, F. (2008) **Morphologic and clinical effects of subretinal injection of indocyanine green and infrared cyanine green in rabbits.** J Ocul Pharmacol Ther. 2008

PENHA, F.M.; MAIA, M.; FARAH, M.E.; KAWAKAMI, L.T.; HOFLING-LIMA, A.L. (2008) **Thermal damage to a light probe using a xenon light source.** Acta Ophthalmol. 2008

PENHA, F.M.; RODRIGUES, E.B.; MAIA, M.; FURLANI, B.A.; REGATIERI, C.; MELO, G.B. (2010) **Retinal and ocular toxicity in ocular application of drugs and chemicals – Part II: retinal toxicity of current and new drugs.** Ophthalmic Res. 2010

PEYMAN, G.A.; HUAMONTE, F.; GOLDBERG, M.F. (1975) **Management of cataract in patients undergoing vitrectomy.** Am J Ophthalmol. 1975

RODRIGUES, E.B.; MAIA, M.; MEYER, C.H.; PENHA, F.M.; DIB, E.; FARAH, M.E. (2007) **Vital dyes for chromovitrectomy.** Curr Opin Ophthalmol. 2007

RODRIGUES, E.B.; MAIA, M.; MEYER, C.H.; PENHA, F.M.; DIB, E.; FARAH, M.E. (2008) **Vital dyes for chromovitrectomy of vital dyes in vitreoretinal surgery and chromovitrectomy.** Dev Ophthalmol. 2008

RODRIGUES, E.B.; MEYER, C.H. (2008) **Meta-analysis of chromovitrectomy with indocyanine green in macular hole surgery.** Ophthalmologica. 2008

RODRIGUES, E.B.; MEYER, C.H.; FARAH, M.E.; KROLL, P. (2005) **Intravitreal staining of the internal limiting membrane using indocyanine green in the treatment of macular holes.** Ophthalmologica. 2005

RODRIGUES, E.B.; PENHA, F.M.; FARAH, M.E.; DE PAULA FIOD COSTA, E.F.; MAIA, M.; DIB, E. (2009) **Preclinical investigation of the retinal biocompatibility of six dyes for chromovitrectomy.** Retina. 2009

SCHUETTAU, F.; HARITOGLOU, C.; MAY, C.A.; REJDAK, R.; MANKOWSKA, A.; FREYER, W. (2006) **Administration of novel dyes for intraocular surgery: an in vivo toxicity animal Study.** Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006

SCHULTE, E.K. (1991) **Standardization of biological dyes and stains: pitfalls and possibilities.** Histochemistry. 1991

SJAARDA, R.N.; FRANK, D.A.; FRANK, D.A.; GLASER, B.M.; THOMPSON, J.T.; MURPHY, R.P. (1993) **Resolution of an absolute scotoma and improvement of relative scotomata after successful macular hole surgery.** Am J Ophthalmol. 1993

SOUSA-MARTINS, D. (2013) **O Uso de Luteína e Zeaxantina como Corantes Intraoculares para Cirurgia Oftálmica.** 2013

SOUZA, N.V. (1997) **Princípios de cirurgia ocular.** Medicina Ribeirão Preto. 1997

TEBA, F.A.; MOHR, A.; ECKHARDT, C.; WONG, D.; KUSALA, S.; JOONDEPH, B.C. (2003) **Trypan blue staining in vitreoretinal surgery.** Ophthalmology. 2003

UNO, F.; MALERBI, F.; MAIA, M.; FARAH, M.E.; MAIA, A.; MAGALHÃES, O. JR (2006) **Subretinal trypan blue migration during epiretinal membrane peeling**. Retina. 2006

YUEN, C.Y.; CHEUNG, B.T.; TSANG, C.W.; LAM, D.S. (2009) **Surgically induced astigmatism in phacoemulsification, pars plana vitrectomy, and combined phacoemulsification and vitrectomy: a comparative study**. Eye. 2009.

THE USE OF LUTEIN AND ZEAXANTHIN AS INTRAOCULAR DYES IN OPHTHALMIC SURGERY

ABSTRACT - To determine whether a natural dye solution based on lutein and zeaxanthin alone or combined with Brilliant Blue stains and facilitates peeling of intraocular membranes in human eyes. In this study of 60 cadaveric eyes, open-sky vitrectomy including posterior hyaloid detachment was performed. Different lutein and zeaxanthin concentrations (0.01-20%) were tested alone or combined with different Brilliant Blue concentrations (0.0125-0.025%) in the corneal endothelium, corneal epithelium, anterior and posterior capsule, vitreous cavity through the macula including the posterior hyaloid, and internal limiting membrane. The various dye solutions were in contact with the intraocular membranes for <1 minute and then were removed by mechanical aspiration or membrane peeling initiated and completed with intraocular forceps. The specimens were examined by light and electron transmission microscopy. Contact between lutein and zeaxanthin and the retinal, lens, and vitreous surface resulted in orange and greenish staining of the intraocular membranes, which facilitated surgical steps in all eyes. Lutein and zeaxanthin alone was useful for vitreous identification and lutein and zeaxanthin combined with Brilliant Blue had strong affinity for internal limiting membrane and anterior capsule. Light microscopy confirmed internal limiting membrane removal in all eyes tested. No dye solutions remained in the eyes after the membrane removal. A natural dye solution based on lutein and zeaxanthin alone or combined with Brilliant Blue efficiently stained the anterior capsule, vitreous, and internal limiting membrane in human cadaveric eyes and may be a useful tool for vitreoretinal or cataract surgery.

KEYWORDS: Blue; Brilliant; Capsule; Chromovitrectomy; Dye; Inner limiting membrane; lutein; Safety; Vitreous; Zeaxanthin.

CITOMETRIA DE FLUXO COMO FERRAMENTA DIAGNÓSTICA PARA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA: UMA MINI-REVISÃO

Laís Dames Kaizer

lattes.cnpq.br/1203494286671290

Claretiano, Centro Universitário, Rio
Claro/SP, Brasil

Leticia Sobrinho de Oliveira

lattes.cnpq.br/7304892545730229

Claretiano, Centro Universitário, Rio
Claro/SP, Brasil

Sabrina Furlan

lattes.cnpq.br/0673332217510684

Claretiano, Centro Universitário, Rio
Claro/SP, Brasil

Marcelo Paschoalete Carlin

lattes.cnpq.br/8434826239575954

Faculdades Integradas Einstein de
Limeira, Limeira/SP, Brasil

Lívia Furquim de Castro

lattes.cnpq.br/0626818750219274

Claretiano, Centro Universitário, Rio
Claro/SP, Brasil

Instituto de Ciências da Saúde,
Universidade Paulista – UNIP,
Limeira/SP, Brasil.

RESUMO:

A púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) é um distúrbio hematológico de baixa prevalência mundial a qual pode ser classificada, de acordo com a sua etiopatogênese, em congênita em caso de mutação genética, ou adquirida relacionada a um distúrbio autoimune com descontrole na produção de autoanticorpos. É caracterizado por trombocitopenia intensa decorrente da deficiência do organismo em sintetizar a enzima ADAMTS13, resultando em um acúmulo de glicoproteínas multiméricas do fator de *von Willebrand* (fvW). O fvW auxilia na manutenção da homeostase, desempenhando um papel fundamental no transporte molecular de proteínas solúveis e indução da agregação plaquetária. O aumento das glicoproteínas fvW resulta na agregação plaquetária intravascular e, conseqüentemente, em crises vaso oclusivas. Diante do grave curso da PTT e, por muitas vezes estar associada a outros distúrbios hematológicos, o diagnóstico precoce é essencial a fim de melhor definir o prognóstico e a terapêutica adequada. Entre os métodos de diagnóstico laboratorial, a técnica de citometria de fluxo tem

mostrado melhor eficácia, devido a sua sensibilidade e especificidade. Nesse contexto, este trabalho teve por objetivo investigar a presença de ensaios clínicos os quais utilizam a citometria de fluxo como método preferencial para o diagnóstico da PTT a fim de realizar uma reflexão do impacto sobre o desfecho clínico da doença.

PALAVRAS-CHAVE: Púrpura trombocitopênica trombótica; Fator von Willebrand; ADAMTS13; Citometria de Fluxo; Anticorpos antiplaquetários.

1. INTRODUÇÃO

Descrita inicialmente em 1924 por Eli Moschcowitz (MOSCHCOWITZ, 1924), a Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) caracteriza-se pela obstrução de pequenos vasos, arteríolas e capilares. Esse distúrbio vaso oclusivo reflete, no indivíduo portador, em manifestações clínicas como anemia hemolítica micro angiopática, isquemia de órgãos e tecidos - incluindo cérebro, coração, trato gastrointestinal e rins - e trombocitopenia profunda (KREMER HOVINGA; COPPO; LÄMMLE; MOAKE *et al.*, 2017). De acordo com a etiopatogênese, pode ser classificada em: (1) congênita ou adquirida, resultante da presença de mutações no gene ADAMTS13 (LEVY; NICHOLS; LIAN; FOROUD *et al.*, 2001), e em (2) imunomediada, caracterizada pela presença de anticorpos autoreativos anti-ADAMTS13 (FURLAN; ROBLES; GALBUSERA; REMUZZI *et al.*, 1998; FURLAN; ROBLES; SOLENTHALER; WASSMER *et al.*, 1997; TSAI; LIAN, 1998).

A etiologia da PTT permaneceu incompreendida até 1982 (MOAKE; RUDY; TROLL; WEINSTEIN *et al.*, 1982), quando o quadro clínico da doença foi relacionado com a incapacidade de clivar o fator von Willebrand (FvW) (EA., 1926). Secretado sobretudo por células estreladas hepáticas (SOEJIMA; MIMURA; HIRASHIMA; MAEDA *et al.*, 2001), células tubulares (MANEA; TATI; KARLSSON; BÉKÁSSY *et al.*, 2010), podócitos renais (MANEA; KRISTOFFERSSON; SCHNEPPENHEIM; SALEEM *et al.*, 2007), plaquetas (LIU; CHOI; BERNARDO; BERGERON *et al.*, 2005) e células endoteliais (TURNER; NOLASCO; TAO; DONG *et al.*, 2006), o FvW tem mostrado complexa biossíntese. A produção dessa glicoproteína multimérica envolve processos de glicosilação, sulfatação, dimerização e multimerização do peptídeo (LENTING; CHRISTOPHE; DENIS, 2015).

Uma vez sintetizado, o FvW é transportado e armazenado em grânulos (α) no interior de megacariócitos/plaquetas (SPORN; CHAVIN; MARDER; WAGNER, 1985) e células endoteliais (WAGNER; OLMSTED; MARDER, 1982). Sob a exposição a estímulos agonistas endógenos, incluindo a presença de citocinas – tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e Interleucina(IL)-8 – histamina e o estresse de cisalhamento laminar, o FvW é lançado na circulação sistêmica através da exocitose granular ou ainda pode permanecer ancorado na superfície das células endoteliais (TSAI; SUSSMAN; NAGEL, 1994). A ancoragem na membrana endotelial e o cisalhamento do

fluxo laminar leva ao desdobramento da proteína e a exposição de sítios de ligação a plaquetas e a enzima ADAMTS13 (KREMER HOVINGA; COPPO; LÄMMLE; MOAKE *et al.*, 2017) (do inglês, *A Desintegrin And Metalloprotease with eight Thrombospondin-1-like 13*).

O FvW contribui para a manutenção da homeostase atuando essencialmente como carreador molecular de uma série de proteínas solúveis (tais como, fator VIII, osteoprotegerina, galectinas) e como indutor de agregação plaquetária em condições de lesão endotelial (LENTING; CHRISTOPHE; DENIS, 2015). Na PTT, a deficiência funcional e/ou quantitativa da enzima ADAMTS13 resulta no acúmulo de grandes multímeros do FvW (TONACO; RIOS; VIEIRA; CARVALHO *et al.*, 2010), o que resulta na excessiva agregação plaquetária e, consequentemente, nas crises vaso oclusivas.

Predominante em mulheres, a PTT é um distúrbio raro com baixa prevalência mundial. Estima-se anualmente que ocorra a incidência de 3 a 11 casos e a prevalência de 10 casos a cada 1 milhão de pessoas (NUÑEZ ZUNO, 2021). Apesar de caracterizar-se como uma doença rara, a complexibilidade dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos (KREMER HOVINGA; COPPO; LÄMMLE; MOAKE *et al.*, 2017), as altas taxas de mortalidade relacionadas às crises agudas e o alto risco de recidivas após o primeiro episódio agudo (KREMER HOVINGA; VESELY; TERRELL; LÄMMLE *et al.*, 2010) são fatores que impulsionam as investigações médico científica.

Apesar da plasmaferese destacar-se como base terapêutica da PTT (FURLAN; ROBLES; MORSELLI; SANDOZ *et al.*, 1999), casos agudos graves são propensos a recidiva e a morbidade a longo prazo (DEFORD; REESE; SCHWARTZ; PERDUE *et al.*, 2013). Devido às apresentações clínicas da PTT ser, muitas vezes, compartilhada com outras desordens hematológicas, o diagnóstico laboratorial torna-se uma ferramenta oportuna e determinante para o desfecho clínico. A fim de facilitar a determinação de autoanticorpos específicos para plaquetas em pacientes com PTT, a citometria de fluxo tem se destacado pela alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico e monitoramento da doença (TOMER, 2006). Dessa forma, esse capítulo buscou realizar um levantamento de ensaios clínicos os quais utilizem a citometria de fluxo como método diferencial de diagnóstico da PTT a fim de estabelecer uma reflexão sobre as perspectivas diagnósticas sobre o desfecho clínico.

2. METODOLOGIA

Este capítulo buscou revisar a fisiopatologia da Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) e seu diagnóstico laboratorial, sobretudo refletir sobre a utilização da citometria de fluxo como diagnóstico diferencial. Para o desenvolvimento dessa revisão bibliográfica descritiva, foi realizado um levantamento bibliográfico nas seguintes plataformas de dados: SciELO

(Scientific Electronic Library Online), PubMed (National Library of Medicine National Institutes of Health), LILACs (Latin American and Caribbean Health Sciences Literature), Google-Scholar, durante janeiro de 2021 até maio de 2021. Para a seleção dos trabalhos foram utilizados os seguintes descritores: “Thrombotic Thrombocytopenic Purpura, Thrombocytopenia, Flow cytometry, Blood platelets, Immune thrombocytopenia”. Foram incluídos trabalhos originais, ensaios clínicos randomizados, estudos observacionais, meta-análises e artigos de revisão. O estudo apresenta caráter qualitativo, visto que o objetivo se concentra na exposição e reflexão de conceitos e ideais, bem como a análise e correlação entre os assuntos estudados.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Purpura Trombocitopênica Trombótica.

A PTT se refere a um distúrbio vaso oclusivo que, de acordo com sua etiopatogênese pode ser classificada em: (1) congênita ou adquirida, quando mutações no gene ADAMTS13 (LEVY; NICHOLS; LIAN; FOROUD *et al.*, 2001) resultam na deficiência enzimática e na disfunção endotelial (DRUMOND, 2018); ou como (2) distúrbio autoimune devido a produção de anticorpos IgG autoreativos antimetalo proteinase (FURLAN; ROBLES; GALBUSERA; REMUZZI *et al.*, 1998; FURLAN; ROBLES; SOLENTHALER; WASSMER *et al.*, 1997; TSAI; LIAN, 1998).

De baixa incidência global, estima-se que a forma congênita acometa mais de 100 pessoas por ano (SCULLY; HUNT; BENJAMIN; LIESNER *et al.*, 2012). Caracterizada por possuir um fenótipo variado, pode manifestar-se em qualquer idade. Contudo, casos mais graves da doença apresentam maior incidência na infância (SCULLY; HUNT; BENJAMIN; LIESNER *et al.*, 2012). Pacientes neonatos podem desenvolver a patologia logo após o nascimento, evidenciando hiperbilirrubinemia e trombocitopenia, acompanhado ou não de isquemia (UPSHAW, 1978).

A etiologia da PTT adquirida ainda permanece pouco elucidada na literatura, sendo fatores como: gravidez (COPPO; BENGOUFA; VEYRADIER; WOLF *et al.*, 2004), uso de substâncias psicoativas, infecções (MORGAND; BUFFET; BUSSON; LOISEAU *et al.*, 2014) e outros distúrbios autoimunes (COPPO; BENGOUFA; VEYRADIER; WOLF *et al.*, 2004) os principais gatilhos para o desenvolvimento da doença. Recentemente, diversas manifestações de coagulopatias vem sendo associadas à pandemia COVID19, sobretudo a relação com casos de PTT (TEHRANI; DARNAHAL; VAEZI; HAGHIGHI, 2021) preocupa estudiosos.

A PTT comumente apresenta-se com um início agudo e evolução preocupante (VEYRADIER; MEYER, 2005). Entre os principais sintomas e manifestações clínicas, destacam-se: febre, trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática, insuficiência renal e distúrbios neurológicos

(frequentemente transitórios, os quais variam de cefaleia até crises focais, convulsões e coma) (ALLFORD; HUNT; ROSE; MACHIN, 2003; SCULLY; HUNT; BENJAMIN; LIESNER *et al.*, 2012). No entanto, esses sinais e sintomas observados de forma conjunta são expressos em apenas 40% dos casos (BANDARENKO; BRECHER, 1998). Em outros casos, também é possível notar o envolvimento do trato gastrointestinal, incluindo manifestações clínicas como dor abdominal, náuseas, vômitos e diarreia.

3.2 Fisiopatologia: da deficiência funcional enzimática à crise vasclusiva.

Em resposta ao rompimento do endotélio vascular, as plaquetas são responsáveis pela formação de coágulo, impedindo o extravasamento do sangue para o leito extravascular. Diversas proteínas e enzimas estão envolvidas na manutenção desse processo fisiológico, sobretudo o fator de von Willebrand (fvW). Após ser secretado pelas células endoteliais (WAGNER; OLMSTED; MARDER, 1982), o fvW atua na agregação das plaquetas e, consequentemente, na formação do trombo plaquetário (DONG; MOAKE; NOLASCO; BERNARDO *et al.*, 2002). Durante seu processo de biossíntese, multímeros dessa glicoproteína formam-se no complexo de Golgi e são armazenados no interior das células endoteliais e plaquetas.

Em condições de homeostase, os multímeros do fvW secretados são logo clivados e removidos pela ação da enzima ADAMTS13 (RUGGERI; MANNUCCI; LOMBARDI; FEDERICI *et al.*, 1982). A clivagem dos multímeros relaciona-se às forças de cisalhamento uma vez que a alta tensão de cisalhamento acelera o desdobramento e a clivagem enzimática dos domínios A2 pela ADAMTS13 (ZHANG; HALVORSEN; ZHANG; WONG *et al.*, 2009). A clivagem proteolítica dos multímeros limita o crescimento do trombo e evita, consequentemente, a trombose microvascular e isquemia do tecido subjacente, características clínicas da PTT. Na ausência quantitativa ou qualitativa da ADAMTS13, o ciclo biológico do fvW se difere uma vez que, mesmo com as forças de cisalhamento, grandes multímeros circulantes tornam-se persistentes e aderem-se às plaquetas não ativadas resultando na formação de trombos com pouca fibrina os quais ocluem arteríolas e capilares (SADLER, 2017).

3.3 Purpura Trombocitopênica Trombótica imunomediada: característica dos anticorpos anti-ADAMTS13

A forma imunomediada da TTP (PTTi) caracteriza-se, sobretudo, pela presença de anticorpos autoreativos contra a enzima ADAMTS13. Prevalentes da classe IgG (FERRARI; SCHEIFLINGER; RIEGER; MUDDE *et al.*, 2007), subclasse IgG4 (FERRARI; MUDDE; RIEGER; VEYRADIER *et al.*, 2009), os autoanticorpos anti-ADAMTS13 contribuem para a imunopatogênese da PTTi através de dois mecanismos efetores distintos: (1) com ação neutralizante,

bloqueiam a atividade proteolítica da ADAMTS13 ou, (2) induzem a formação de imunocomplexos os quais aumentam a depuração da protease da circulação (THOMAS; DE GROOT; SCULLY; CRAWLEY, 2015).

Considerando o uso crescente dos imunomoduladores (PEYVANDI; SCULLY; KREMER HOVINGA; KNÖBL *et al.*, 2017; WESTWOOD; THOMAS; ALWAN; MCDONALD *et al.*, 2017) e, recentemente, de recombinantes (SCULLY; KNÖBL; KENTOUICHE; RICE *et al.*, 2017), torna-se fundamental a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos para correlacionar com as manifestações clínicas e definir a melhor conduta terapêutica.

É de amplo conhecimento que os linfócitos B tradicionalmente conduzem a resposta humoral pela produção de anticorpos e que, para que ocorra a troca de isotipo da cadeia pesada (classe) bem como a maturação de afinidade, é essencial a cooperação com os linfócitos TCD4⁺ (ABBAS, 2018). Dessa forma, para a ativação da resposta celular, unidades de açúcares expressos na ADAMTS13 são reconhecidos pelos receptores de manose (CD206) expressos em células dendríticas (DCs) promovendo, dessa forma, a endocitose da protease e, conseqüentemente, a apresentação dos peptídeos via MHC de classe II (SORVILLO; POS; VAN DEN BERG; FIJNHEER *et al.*, 2012). Estudos identificaram o envolvimento dos genes HLADRB1*11 e HLADRB1*03 no desenvolvimento da PTT uma vez que peptídeos derivados do domínio CUB2 da protease ADAMTS13 foram preferencialmente apresentados por moléculas de MHC de classe II codificadas por esses alelos (SORVILLO; VAN HAREN; KAIJEN; TEN BRINKE *et al.*, 2013; VERBIJ; TURKSMA; DE HEIJ; KAIJEN *et al.*, 2016). Todavia, a compreensão do reconhecimento dos epítomos antigênicos da ADAMTS13 por moléculas MHC classe II específicas e o envolvimento da ativação de linfócitos TCD4⁺ autoreativos ainda se mantém obscuro na literatura.

3.4 Diagnóstico Laboratorial

Os sinais clínicos da PTT não são específicos podendo apresentar-se em outros distúrbios trombóticos. Devido as altas taxas de mortalidade dos casos agudos (DEFORD; REESE; SCHWARTZ; PERDUE *et al.*, 2013), a PTT caracteriza-se como uma emergência médica sendo necessário seu rápido diagnóstico presuntivo.

3.4.1 Hemograma

Casos agudos da PTT apresentam-se uniformemente com plaquetopenia (níveis inferiores a 20.000/mm³) e anemia hemolítica microangiopática (VEYRADIER; MEYER, 2005). Os trombos plaquetários produzidos na PTT podem, alternativamente, obstruir parcialmente os vasos sanguíneos e elevar, conseqüentemente, as forças de cisalhamento (SUKUMAR; LÄMMLE; CATALAND, 2021). A vasoclusão parcial e as forças de cisalhamento, resultam na produção de eritrócitos fragmentados

e, consequentemente, no quadro clínico da anemia hemolítica (GEORGE; NESTER, 2014; SUKUMAR; LÄMMLE; CATALAND, 2021). Trabalhos recentes sugerem a participação ativa dos grandes multímeros do fvW sobre a produção desses esquizócitos (HERBIG; DIAMOND, 2015; ZHENG; CHEN; LÓPEZ, 2015). O sequestro das plaquetas durante a formação dos trombos resulta no quadro de plaquetopenia e a hemólise intravascular evidenciada pela geração dos esquizócitos refletem na queda da hemoglobina (TONACO; RIOS; VIEIRA; CARVALHO *et al.*, 2010). A plaquetopenia aliada a redução do número absoluto de eritrócitos sobrecarrega a medula óssea na qual, em resposta a esses estímulos, ocasiona um aumento dos megacariócitos, de precursores eritróides e contagem de reticulócitos (TONACO, *et al.*, 2010).

3.4.2 Aspectos bioquímicos e da hemostasia

A hemólise intravascular reflete na alteração de outros parâmetros bioquímicos tais como a elevação da bilirrubina total, sobretudo da forma não conjugada, e o aumento sérico do lactato desidrogenase (VEYRADIER; MEYER, 2005). Parâmetros adicionais para avaliação da coagulação tais como tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, fibrinogênio e degradação da fibrina encontram-se dentro da normalidade na PTT (VEYRADIER; MEYER, 2005).

3.4.3 Ensaios para avaliação da função proteolítica

Descritos inicialmente em 1998 (FURLAN; ROBLES; GALBUSERA; REMUZZI *et al.*, 1998; TSAI; LIAN, 1998), os ensaios que avaliam atividade plasmática da ADAMTS13 destacam-se como ferramenta diagnóstica complementar para o diagnóstico da PTT uma vez que grande parte dos pacientes diagnosticados em fase aguda exibem deficiência funcional grave da ADAMTS13 (GEORGE; NESTER, 2014). Os ensaios para avaliação da atividade proteolítica da ADAMTS13 baseiam-se sobretudo na degradação do fvW e na detecção dos produtos da clivagem. Os produtos gerados podem, alternativamente, ser detectados por ensaios de transferência de energia de ressonância por fluorescência (FRET) (KOKAME; NOBE; KOKUBO; OKAYAMA *et al.*, 2005), ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) (KATO; MATSUMOTO; MATSUYAMA; ISONISHI *et al.*, 2006), espectrometria de massa (SELDI-TOF) (JIN; CATALAND; BISSELL; WU, 2006), eletroforese (FURLAN; ROBLES; GALBUSERA; REMUZZI *et al.*, 1998; TSAI; LIAN, 1998), ensaios de ligação ao colágeno (GERRITSEN; TURECEK; SCHWARZ; LÄMMLE *et al.*, 1999), ou ainda pela agregação plaquetária induzida pela ristocetina (RIPA).

Apesar dos inúmeros esforços a fim de melhorar a sensibilidade dos métodos e reduzir o tempo de execução (VEYRADIER; GIRMA, 2004), a avaliação funcional da ADAMTS13 ainda encontra-se distante na rotina laboratorial. O incômodo gerado ao paciente, baixa sensibilidade alcançada

(limite admitido, em sua maioria, de 5%) (VEYRADIER; GIRMA, 2004) e tempo de execução destacam-se como fatores limitantes de sua utilização (VEYRADIER; MEYER, 2005).

3.5 Citometria de Fluxo

Devido a gravidade do curso da doença, o diagnóstico precoce e agilidade terapêutica são determinantes para o desfecho clínico da PTT. Dessa forma, o avanço tecnológico de ferramentas empregadas para encontrar o diagnóstico são de grande interesse. Entre os métodos de grande perspectiva diagnóstica, destaca-se a identificação de autoanticorpos através da técnica de citometria de fluxo.

Baseada no princípio de Coulter (COULTER W. H. U.S. PATENT 2, 1953; ROBINSON, 2013), a citometria de fluxo permite a mensuração e classificação de partículas suspensas em uma solução à medida que, guiadas através do fluxo laminar, são expostas à lasers únicos (ou múltiplos, dependendo do equipamento) (MCKINNON, 2018). Esse sistema de detecção é composto, basicamente, por uma fonte de luz a qual é direcionada à partícula que está em fluxo hidrodinâmico (BÜSCHER, 2019) e, após a inserção, a dispersão da luz visível e a excitação de fluorocromos permite a geração de feixes com diferentes comprimentos de onda e a detecção de múltiplos parâmetros.

A dispersão da luz visível é detectada em duas direções distintas sendo, a dispersão dianteira (ou *forward scatter*, FSC) e a dispersão lateral (ou *side scatter*, SSC) responsáveis por determinar o tamanho e o grau de complexidade (ou granulosidade) da partícula (MCKINNON, 2018). Além de mensurar o diâmetro, a área de superfície e volume da partícula, a citometria de fluxo é empregada para a mensuração da fluorescência na qual a célula ou estruturas celulares podem ser: transfectadas com proteínas fluorescentes (como por exemplo, a proteína verde fluorescente, GFP), coradas com corantes fluorescentes (por exemplo, iodeto de propídio), e rotuladas com anticorpos conjugados a fluorocromos (por exemplo, anticorpo anti-CD3 conjugado ao isotiocianato de fluoresceína, FITC).

3.5.1 Diagnóstico por Citometria de Fluxo

A determinação da presença de autoanticorpos associados a plaquetas é fundamental para a determinação da PTT (TSAI; LIAN, 1998), diferenciando-a de outros distúrbios hematológicos (CONNOR; MA; JOSEPH, 2013), e para a definição da conduta terapêutica. A presença de autoanticorpos podem ser facilmente detectado através de radioimunoensaios e ensaios imunoenzimáticos (ELISA) (DIXON; ROSSE; EBBERT, 1975; FERRARI; SCHEIFLINGER; RIEGER; MUDDE *et al.*, 2007; KELTON; POWERS; CARTER, 1982; RIEGER; MANNUCCI; KREMER HOVINGA; HERZOG *et al.*, 2005) entretanto, dado a elevada sensibilidade, diversos

estudos conduzem a citometria de fluxo como ferramenta complementar ao diagnóstico (AULT, 1988; HEIM; PETERSEN, 1988; ROSENFELD; NICHOLS; BODENSTEINER, 1987; TAZZARI; RICCI; VIANELLI; TASSI *et al.*, 1995).

A elevação da concentração de anticorpos antiplaquetários em soros trombocitopênicos foi inicialmente descrito em 1971 por Dixon *et al.* através do ensaio de inibição da lise do complemento (DIXON; ROSSE; EBBERT, 1975). Em 2005, a citometria de fluxo foi empregada na detecção de autoanticorpos através da interação com microesferas revestidas com receptores plaquetários específicos (TOMER; KOZIOL; MCMILLAN, 2005). Essa metodologia tem demonstrado maior sensibilidade na detecção de imunoglobulinas G associadas a plaquetas (IgG-PA) quando comparado a outras metodologias, tais como os ensaios plaquetários por aderência de células vermelhas em fase sólida (LIN; LYOU; CHEN; CHEN *et al.*, 2006) e ensaios de imobilização de antígenos plaquetários (AREF; SELIM; IBRAHIM; ABD-ELGHAFAR *et al.*, 2009).

Entretanto, apesar de mostra-se útil no diagnóstico, a restrição à identificação de IgG-PA em pacientes trombocitopênicos idiopáticos torna a especificidade questionável (ROMERO-GUZMÁN; LÓPEZ-KARPOVITCH; PAREDES; BARRALES-BENITEZ *et al.*, 2000). A fim de estreitar a distância entre a citometria de fluxo e a aplicação diagnóstica, alguns estudos buscaram aumentar a especificidade da detecção de IgG-PA através da utilização de pontos de corte para positividade (HUH; PARK; KIM; HAN *et al.*, 2009).

A literatura descreve e compara três métodos diferentes para a pesquisa de autoanticorpos em soros trombocitopênicos utilizando a citometria de fluxo. Entre os métodos, o ensaio de fase 1 possibilita averiguar alterações funcionais plaquetárias. No entanto, à baixa sensibilidade e especificidade torna sua aplicação inapropriada ao diagnóstico (TOMER, 2006). Por outro lado, o ensaio de fase 2 é capaz de detectar imunoglobulinas G associadas à superfície ou ao interior das plaquetas lisadas, essa alteração metodológica possui alta sensibilidade (80-90%), porém ainda apresenta duvidosa especificidade (TOMER, 2006). Por fim, os ensaios de fase 3 visam superar esse obstáculo através de diferentes abordagens, entre elas, destaca-se a utilização de microesferas acopladas a anticorpos capazes de interagir com o complexo autoanticorpo-plaqueta (FCIA, do inglês *flow cytometric immunobead assay*) (ZHAI; DING; YANG; ZUO *et al.*, 2017). A elevada sensibilidade e especificidade, concomitante com a detecção reduzida da concentração sérica de autoanticorpos antiplaquetários em pacientes trombocitopênicos após tratamento com corticosteroides, confirma a utilização metodológica não apenas para o diagnóstico laboratorial, mas também para o monitoramento terapêutico (ZHAI; DING; YANG; ZUO *et al.*, 2017).

Na PTTi, a robusta ativação de subpopulações de linfócitos T CD4⁺ contribuem para a produção de citocinas inflamatórias e para a ativação e diferenciação de células B autoreativas secretoras de anticorpos. Entre as

células TCD4⁺, os linfócitos Th1 destacam-se pela expressão do fator de transcrição T-bet e pela produção de IFN- γ , TNF- α e interleucina(IL)-2. Por outro lado, as células Th2 caracterizam-se pela ativação do fator de transcrição GATA-3 e pela produção de citocinas supressoras da resposta imune celular tais como a IL-4, IL-5, IL-10, o fator de transformação de crescimento-beta (TGF- β). Envolvidos na patogênese de doenças autoimunes, os linfócitos CD4⁺ produtores de Th17, denominados de Th17, foram identificados como sendo uma subpopulação com origem distinta dos linfócitos Th1 e Th2 caracterizados, sobretudo, pela ativação do fator de transcrição denominado de ROR γ t e pela produção de IL-17 e IL-22 (STEINMAN, 2007). O desequilíbrio na frequência dessas subpopulações e, conseqüentemente, o perfil sérico de citocinas está envolvido da patogênese da PPT (WU; LIU; PANG; SUN *et al.*, 2019). Dessa forma, além da identificação de anticorpos autoreativos na PPTi, a citometria de fluxo tem se mostrado como uma ferramenta útil para explorar o desbalanço nas frequências populacionais de linfócitos TCD4⁺ (GOUBRAN; HART; OTHMAN; SEGATCHIAN, 2018) e auxiliar no diagnóstico e prognóstico uma vez que a elevação periférica de linfócitos TCD4⁺ (RONG; YAN-XIANG Z FAU - SHAN-SHAN; SHAN-SHAN X FAU - JU-MEI; JU-MEI) e a redução da frequência de células NK (ZHAO; YANG; YANG; ZHUANG *et al.*, 2015) tem se relacionado à casos irresponsivos à corticoterapia.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico da PTT é sobretudo baseado na exclusão de outras etiologias responsáveis pela trombocitopenia associado a anamnese, exame físico e hemograma. Apesar da citometria de fluxo não se destacar como primeira escolha diagnóstica, a alta sensibilidade e o refinamento no desempenho do reconhecimento específico dos casos positivos torna uma conveniente e individualizada abordagem diagnóstica.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. **Cellular and molecular immunology**. Philadelphia: Saunders Elsevier., 9ed, 2018.
- ALLFORD, S. L.; HUNT, B. J.; ROSE, P.; MACHIN, S. J. **Guidelines on the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias**. Br J Haematol, 120, n. 4, p. 556-573, Feb 2003.
- AREF, S.; SELIM, T.; IBRAHIM, L.; ABD-ELGHAFAR, H. *et al.* **Flow cytometry detection of platelets autoantibodies in children with idiopathic thrombocytopenic purpura**. Indian journal of hematology & blood transfusion : an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion, 25, n. 3, p. 96-103, 2009.
- AULT, K. A. **Flow cytometric measurement of platelet-associated immunoglobulin**.

Pathol Immunopathol Res, 7, n. 5, p. 395-408, 1988.

BANDARENKO, N.; BRECHER, M. E. **United States Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Apheresis Study Group (US TTP ASG): multicenter survey and retrospective analysis of current efficacy of therapeutic plasma exchange.** J Clin Apher, 13, n. 3, p. 133-141, 1998.

BÜSCHER, M. **Flow Cytometry Instrumentation - An Overview.** Curr Protoc Cytom, 87, n. 1, p. e52, Jan 2019.

CONNOR, D. E.; MA, D. D.; JOSEPH, J. E. **Flow cytometry demonstrates differences in platelet reactivity and microparticle formation in subjects with thrombocytopenia or thrombocytosis due to primary haematological disorders.** Thromb Res, 132, n. 5, p. 572-577, Nov 2013.

COPPO, P.; BENGOUFA, D.; VEYRADIER, A.; WOLF, M. *et al.* **Severe ADAMTS13 deficiency in adult idiopathic thrombotic microangiopathies defines a subset of patients characterized by various autoimmune manifestations, lower platelet count, and mild renal involvement.** Medicine (Baltimore), 83, n. 4, p. 233-244, Jul 2004.

COULTER W. H. U.S. PATENT 2, 508. 1953.

DEFORD, C. C.; REESE, J. A.; SCHWARTZ, L. H.; PERDUE, J. J. *et al.* **Multiple major morbidities and increased mortality during long-term follow-up after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura.** Blood, 122, n. 12, p. 2023-2029; quiz 2142, Sep 19 2013.

DIXON, R.; ROSSE, W.; EBBERT, L. **Quantitative determination of antibody in idiopathic thrombocytopenic purpura. Correlation of serum and platelet-bound antibody with clinical response.** N Engl J Med, 292, n. 5, p. 230-236, Jan 30 1975.

DONG, J. F.; MOAKE, J. L.; NOLASCO, L.; BERNARDO, A. *et al.* **ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions.** Blood, 100, n. 12, p. 4033-4039, Dec 1 2002.

DRUMOND, J. P. N. A.-A., Rima M.; Figueiredo, Raissa P. C.; Mourão, Vanessa N.; Aiziro, Juliana B.; Caly, Décio N.; Cortez, Afonso José P. . **Thrombotic thrombocytopenic purpura: a case report.** . Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [online], v. 54, n. n. 4, p. pp. 255-259, 2018.

EA., v. W. **Hereditar pseudohemofili.** . Fin Laekaresaellsk Hand. , 68, p. 87-112, 1926.

FERRARI, S.; MUDDE, G. C.; RIEGER, M.; VEYRADIER, A. *et al.* **IgG subclass distribution of anti-ADAMTS13 antibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura.** J Thromb Haemost, 7, n. 10, p. 1703-1710, Oct 2009.

FERRARI, S.; SCHEIFLINGER, F.; RIEGER, M.; MUDDE, G. *et al.* **Prognostic value of anti-ADAMTS 13 antibody features (Ig isotype, titer, and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with undetectable ADAMTS 13 activity.** Blood, 109, n. 7, p. 2815-2822, Apr 1 2007.

FURLAN, M.; ROBLES, R.; GALBUSERA, M.; REMUZZI, G. *et al.* **von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome.** N Engl J Med, 339, n. 22, p. 1578-1584, Nov 26 1998.

FURLAN, M.; ROBLES, R.; MORSELLI, B.; SANDOZ, P. *et al.* **Recovery and half-life of von Willebrand factor-cleaving protease after plasma therapy in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura.** Thromb Haemost, 81, n. 1, p. 8-13, Jan 1999.

FURLAN, M.; ROBLES, R.; SOLENTHALER, M.; WASSMER, M. *et al.* **Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura.** Blood, 89, n. 9, p. 3097-3103, May 1 1997.

GEORGE, J. N.; NESTER, C. M. **Syndromes of thrombotic microangiopathy.** N Engl J Med, 371, n. 19, p. 1847-1848, Nov 6 2014.

GERRITSEN, H. E.; TURECEK, P. L.; SCHWARZ, H. P.; LÄMMLE, B. *et al.* **Assay of von Willebrand factor (vWF)-cleaving protease based on decreased collagen binding affinity of degraded vWF: a tool for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP).** Thromb Haemost, 82, n. 5, p. 1386-1389, Nov 1999.

GOUBRAN, H.; HART, C.; OTHMAN, I.; SEGATCHIAN, J. **Flow cytometry and immune thrombocytopenic purpura.** Transfus Apher Sci, 57, n. 6, p. 800-803, Dec 2018.

HEIM, M. C.; PETERSEN, B. H. **Detection of platelet-associated immunoglobulin in immune thrombocytopenia by flow cytometry.** Diagn Clin Immunol, 5, n. 6, p. 309-313, 1988.

HERBIG, B. A.; DIAMOND, S. L. **Pathological von Willebrand factor fibers resist tissue plasminogen activator and ADAMTS13 while promoting the contact pathway and shear-induced platelet activation.** J Thromb Haemost, 13, n. 9, p. 1699-1708, Sep 2015.

HUH, H. J.; PARK, C. J.; KIM, S. W.; HAN, S. H. *et al.* **Flow cytometric detection of platelet-associated immunoglobulin in patients with immune thrombocytopenic purpura and nonimmune thrombocytopenia.** Ann Clin Lab Sci, 39, n. 3, p. 283-288, Summer 2009.

JIN, M.; CATALAND, S.; BISSELL, M.; WU, H. M. **A rapid test for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura using surface enhanced laser desorption/ionization time-of-flight (SELDI-TOF)-mass spectrometry.** J Thromb Haemost, 4,

n. 2, p. 333-338, Feb 2006.

KATO, S.; MATSUMOTO, M.; MATSUYAMA, T.; ISONISHI, A. *et al.* **Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity.** Transfusion, 46, n. 8, p. 1444-1452, Aug 2006.

KELTON, J. G.; POWERS, P. J.; CARTER, C. J. **A prospective study of the usefulness of the measurement of platelet-associated IgG for the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura.** Blood, 60, n. 4, p. 1050-1053, Oct 1982.

KOKAME, K.; NOBE, Y.; KOKUBO, Y.; OKAYAMA, A. *et al.* **FRETTS-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay.** Br J Haematol, 129, n. 1, p. 93-100, Apr 2005.

KREMER HOVINGA, J. A.; COPPO, P.; LÄMMLE, B.; MOAKE, J. L. *et al.* **Thrombotic thrombocytopenic purpura.** Nat Rev Dis Primers, 3, p. 17020, Apr 6 2017.

KREMER HOVINGA, J. A.; VESELY, S. K.; TERRELL, D. R.; LÄMMLE, B. *et al.* **Survival and relapse in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura.** Blood, 115, n. 8, p. 1500-1511; quiz 1662, Feb 25 2010.

LENTING, P. J.; CHRISTOPHE, O. D.; DENIS, C. V. **von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends.** Blood, 125, n. 13, p. 2019-2028, Mar 26 2015.

LEVY, G. G.; NICHOLS, W. C.; LIAN, E. C.; FOROUD, T. *et al.* **Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura.** Nature, 413, n. 6855, p. 488-494, Oct 4 2001.

LIN, J. S.; LYOU, J. Y.; CHEN, Y. J.; CHEN, P. S. *et al.* **Screening for platelet antibodies in adult idiopathic thrombocytopenic purpura: a comparative study using solid phase red cell adherence assay and flow cytometry.** J Chin Med Assoc, 69, n. 12, p. 569-574, Dec 2006.

LIU, L.; CHOI, H.; BERNARDO, A.; BERGERON, A. L. *et al.* **Platelet-derived VWF-cleaving metalloprotease ADAMTS-13.** J Thromb Haemost, 3, n. 11, p. 2536-2544, Nov 2005.

MANEA, M.; KRISTOFFERSSON, A.; SCHNEPPENHEIM, R.; SALEEM, M. A. *et al.* **Podocytes express ADAMTS13 in normal renal cortex and in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura.** Br J Haematol, 138, n. 5, p. 651-662, Sep 2007.

MANEA, M.; TATI, R.; KARLSSON, J.; BÉKÁSSY, Z. D. *et al.* **Biologically active ADAMTS13 is expressed in renal tubular epithelial cells.** Pediatr Nephrol, 25, n. 1, p. 87-96, Jan 2010.

MCKINNON, K. M. **Flow Cytometry: An Overview.** Curr Protoc Immunol, 120, p. 5.1.1-5.1.11, Feb 21 2018.

MOAKE, J. L.; RUDY, C. K.; TROLL, J. H.; WEINSTEIN, M. J. *et al.* **Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura.** N Engl J Med, 307, n. 23, p. 1432-1435, Dec 2 1982.

MORGAND, M.; BUFFET, M.; BUSSON, M.; LOISEAU, P. *et al.* **High prevalence of infectious events in thrombotic thrombocytopenic purpura and genetic relationship with toll-like receptor 9 polymorphisms: experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center.** Transfusion, 54, n. 2, p. 389-397, Feb 2014.

MOSCHCOWITZ, E. **Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease.** . Proc. N. Y. Pathol. Soc., 24, p. 21-24, 1924.

NUÑEZ ZUNO, J. A. K., Karam. . **Thrombocytopenic Purpura Evaluation and Management.** In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470585/>, 2021.

PEYVANDI, F.; SCULLY, M.; KREMER HOVINGA, J. A.; KNÖBL, P. *et al.* **Caplacizumab reduces the frequency of major thromboembolic events, exacerbations and death in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura.** J Thromb Haemost, 15, n. 7, p. 1448-1452, Jul 2017.

RIEGER, M.; MANNUCCI, P. M.; KREMER HOVINGA, J. A.; HERZOG, A. *et al.* **ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic microangiopathies and other immunomediated diseases.** Blood, 106, n. 4, p. 1262-1267, Aug 15 2005.

ROBINSON, J. P. Wallace H. **Coulter: decades of invention and discovery.** Cytometry A, 83, n. 5, p. 424-438, May 2013.

ROMERO-GUZMÁN, L. T.; LÓPEZ-KARPOVITCH, X.; PAREDES, R.; BARRALES-BENITEZ, O. *et al.* **Detection of platelet-associated immunoglobulins by flow cytometry for the diagnosis of immune thrombocytopenia: a prospective study and critical review.** Haematologica, 85, n. 6, p. 627-631, Jun 2000.

RONG, W.; YAN-XIANG Z FAU - SHAN-SHAN, X.; SHAN-SHAN X FAU - JU-MEI, S.; JU-MEI, S. **Lymphocyte subsets in primary immune thrombocytopenia.** n. 1473-5733 (Electronic).

ROSENFELD, C. S.; NICHOLS, G.; BODENSTEINER, D. C. **Flow cytometric measurement of antiplatelet antibodies.** Am J Clin Pathol, 87, n. 4, p. 518-522, Apr 1987.

RUGGERI, Z. M.; MANNUCCI, P. M.; LOMBARDI, R.; FEDERICI, A. B. *et al.* **Multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor following administration of DDAVP: implications for pathophysiology and therapy of von Willebrand's disease subtypes.** Blood, 59, n. 6, p. 1272-1278, Jun 1982.

SADLER, J. E. **Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura.** Blood,

130, n. 10, p. 1181-1188, 2017.

SCULLY, M.; HUNT, B. J.; BENJAMIN, S.; LIESNER, R. *et al.* **Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies.** Br J Haematol, 158, n. 3, p. 323-335, Aug 2012.

SCULLY, M.; KNÖBL, P.; KENTOUCHE, K.; RICE, L. *et al.* **Recombinant ADAMTS-13: first-in-human pharmacokinetics and safety in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura.** Blood, 130, n. 19, p. 2055-2063, Nov 9 2017.

SOEJIMA, K.; MIMURA, N.; HIRASHIMA, M.; MAEDA, H. *et al.* **A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood: possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease?** J Biochem, 130, n. 4, p. 475-480, Oct 2001.

SORVILLO, N.; POS, W.; VAN DEN BERG, L. M.; FIJNHEER, R. *et al.* **The macrophage mannose receptor promotes uptake of ADAMTS13 by dendritic cells.** Blood, 119, n. 16, p. 3828-3835, Apr 19 2012.

SORVILLO, N.; VAN HAREN, S. D.; KAIJEN, P. H.; TEN BRINKE, A. *et al.* **Preferential HLA-DRB1*11-dependent presentation of CUB2-derived peptides by ADAMTS13-pulsed dendritic cells.** Blood, 121, n. 17, p. 3502-3510, Apr 25 2013.

SPORN, L. A.; CHAVIN, S. I.; MARDER, V. J.; WAGNER, D. D. **Biosynthesis of von Willebrand protein by human megakaryocytes.** The Journal of clinical investigation, 76, n. 3, p. 1102-1106, 1985.

STEINMAN, L. **A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage.** Nat Med, 13, n. 2, p. 139-145, Feb 2007.

SUKUMAR, S.; LÄMMLE, B.; CATALAND, S. R. **Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: Pathophysiology, Diagnosis, and Management.** Journal of clinical medicine, 10, n. 3, p. 536, 2021.

TAZZARI, P. L.; RICCI, F.; VIANELLI, N.; TASSI, C. *et al.* **Detection of platelet-associated antibodies by flow cytometry in hematological autoimmune disorders.** Ann Hematol, 70, n. 5, p. 267-272, May 1995.

TEHRANI, H. A.; DARNAHAL, M.; VAEZI, M.; HAGHIGHI, S. **COVID-19 associated thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) ; A case series and mini-review.** International immunopharmacology, 93, p. 107397-107397, 2021.

THOMAS, M. R.; DE GROOT, R.; SCULLY, M. A.; CRAWLEY, J. T. **Pathogenicity of Anti-ADAMTS13 Autoantibodies in Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura.** EBioMedicine, 2, n. 8, p. 942-952, Aug 2015.

TOMER, A. **Autoimmune thrombocytopenia: determination of platelet-specific autoantibodies by flow cytometry.** Pediatr Blood Cancer, 47, n. 5 Suppl, p. 697-700,

Oct 15 2006.

TOMER, A.; KOZIOL, J.; MCMILLAN, R. **Autoimmune thrombocytopenia: flow cytometric determination of platelet-associated autoantibodies against platelet-specific receptors.** J Thromb Haemost, 3, n. 1, p. 74-78, Jan 2005.

TONACO, L. C.; RIOS, D. R. A.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. d. G. *et al.* **Púrpura trombocitopênica trombótica: o papel do fator von Willebrand e da ADAMTS13.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 32, p. 155-161, 2010.

TSAL, H. M.; LIAN, E. C. **Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura.** N Engl J Med, 339, n. 22, p. 1585-1594, Nov 26 1998.

TSAL, H. M.; SUSSMAN, II; NAGEL, R. L. **Shear stress enhances the proteolysis of von Willebrand factor in normal plasma.** Blood, 83, n. 8, p. 2171-2179, Apr 15 1994.

TURNER, N.; NOLASCO, L.; TAO, Z.; DONG, J. F. *et al.* **Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13.** J Thromb Haemost, 4, n. 6, p. 1396-1404, Jun 2006.

UPSHAW, J. D., Jr. **Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia.** N Engl J Med, 298, n. 24, p. 1350-1352, Jun 15 1978.

VERBIJ, F. C.; TURKSMA, A. W.; DE HEIJ, F.; KAIJEN, P. *et al.* **CD4+ T cells from patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura recognize CUB2 domain-derived peptides.** Blood, 127, n. 12, p. 1606-1609, Mar 24 2016.

VEYRADIER, A.; GIRMA, J. P. **Assays of ADAMTS-13 activity.** Semin Hematol, 41, n. 1, p. 41-47, Jan 2004.

VEYRADIER, A.; MEYER, D. **Thrombotic thrombocytopenic purpura and its diagnosis.** J Thromb Haemost, 3, n. 11, p. 2420-2427, Nov 2005.

WAGNER, D. D.; OLMSTED, J. B.; MARDER, V. J. **Immunolocalization of von Willebrand protein in Weibel-Palade bodies of human endothelial cells.** J Cell Biol, 95, n. 1, p. 355-360, Oct 1982.

WESTWOOD, J. P.; THOMAS, M.; ALWAN, F.; MCDONALD, V. *et al.* **Rituximab prophylaxis to prevent thrombotic thrombocytopenic purpura relapse: outcome and evaluation of dosing regimens.** Blood Adv, 1, n. 15, p. 1159-1166, Jun 27 2017.

WU, D.; LIU, Y.; PANG, N.; SUN, M. *et al.* **PD-1/PD-L1 pathway activation restores the imbalance of Th1/Th2 and treg/Th17 cells subtypes in immune thrombocytopenic purpura patients.** Medicine, 98, n. 43, p. e17608-e17608, 2019.

ZHAI, J.; DING, M.; YANG, T.; ZUO, B. *et al.* **Flow cytometric immunobead assay for quantitative detection of platelet autoantibodies in immune thrombocytopenia**

patients. J Transl Med, 15, n. 1, p. 214, Oct 23 2017.

ZHANG, X.; HALVORSEN, K.; ZHANG, C. Z.; WONG, W. P. *et al.* **Mechanoenzymatic cleavage of the ultralarge vascular protein von Willebrand factor.** Science, 324, n. 5932, p. 1330-1334, Jun 5 2009.

ZHAO, Z.; YANG, L.; YANG, G.; ZHUANG, Y. *et al.* **Contributions of T lymphocyte abnormalities to therapeutic outcomes in newly diagnosed patients with immune thrombocytopenia.** PloS one, 10, n. 5, p. e0126601-e0126601, 2015.

ZHENG, Y.; CHEN, J.; LÓPEZ, J. A. **Flow-driven assembly of VWF fibres and webs in in vitro microvessels.** Nat Commun, 6, p. 7858, Jul 30 2015.

FLOW CYTOMETRY AS A DIAGNOSTIC TOOL FOR THROMBOTIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA: A MINI-REVIEW

ABSTRACT - Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a hematological disorder of low worldwide prevalence that can be classified, according to its etiopathogenesis, as congenital in case of genetic mutation, or acquired related to an autoimmune disorder with uncontrolled antibody production. It is characterized by intense thrombocytopenia due to the body's deficiency in synthesizing the enzyme ADAMTS13, resulting in an accumulation of multimeric glycoproteins of von Willebrand factor (fvW). FvW assists in the maintenance of homeostasis, playing a fundamental role in the molecular transport of soluble proteins and induction of platelet aggregation. The increase in fvW glycoproteins is due to the functional deficiency of the ENZYME ADAMTS13 which results in intravascular platelet aggregation and, consequently, in occlusive vessel seizures. Given the severe course of TTP, and often being associated with other hematological disorders, early diagnosis is essential to better define prognosis and appropriate therapy. Among laboratory diagnostic methods, the flow cytometry technique has shown better efficacy due to its sensitivity and specificity. In this context, this study aimed to investigate the presence of clinical trials that use flow cytometry as the preferred method for the diagnosis of TTP to perform a reflection of the impact on the clinical outcome of the disease.

KEYWORDS: Thrombotic Thrombocytopenic Purpura; Von Willebrand Factor; ADAMTS13; Flow Cytometry; Antiplatelet antibodies.

CAPÍTULO 8

PHAGE DISPLAY NO DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSORES APLICADOS À ONCOLOGIA

Rafael da Fonseca Alves

lattes.cnpq.br/5300295722052303

Departamento de Química Analítica,
Instituto de Química
Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Araraquara, SP.

Isabella Castro Martins

lattes.cnpq.br/9441157300835637

Instituto de Biotecnologia (IBTEC)
Universidade Federal de Uberlândia
(UFU), Uberlândia, MG.

Matheus Alves Ribeiro

lattes.cnpq.br/6503523688734455

Instituto de Biotecnologia (IBTEC)
Universidade Federal de Uberlândia
(UFU), Patos de Minas, MG.

**Maria Del Pilar Taboada
Sotomayor**

lattes.cnpq.br/2933194342093387

Departamento de Química Analítica,
Instituto de Química
Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Araraquara, SP.

Thaise Gonçalves de Araújo

lattes.cnpq.br/3348615812243880

Instituto de Biotecnologia (IBTEC)
Universidade Federal de Uberlândia
(UFU), Patos de Minas, MG.

RESUMO – As neoplasias malignas são consideradas a principal causa de mortalidade no mundo. A detecção precoce da doença é decisiva para a eficácia do tratamento, contudo as estratégias atuais de diagnóstico são limitadas. Nesse sentido, a descoberta de biomarcadores tumorais é uma alternativa promissora, especialmente quando associada a tecnologias inovadoras passíveis de miniaturização. A técnica de *Phage Display* permite selecionar peptídeos ligantes aos mais diversos alvos, superando a heterogeneidade dos tumores e abrindo caminhos para a evolução das práticas clínicas. Os peptídeos selecionados, além de apresentarem alta afinidade, pureza e baixo custo, podem ser utilizados em biossensores, em uma interface biotecnológica de reconhecimento. Os biossensores, por sua vez, são uma plataforma rápida, acessível, confiável, sensível e de fácil manuseio. Neste capítulo, são abordados os principais aspectos relacionados a

tumores e os atuais desafios no diagnóstico da doença, bem como a utilização da técnica de *Phage Display* na descoberta de novos biomarcadores. Por fim, são apresentados os benefícios dos biossensores e sua versatilidade, em que ciência básica e aplicada convergem para a solução de problemas de saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer; Biossensores; Peptídeos; *Phage Display*.

1. CÂNCER: ASPECTOS GERAIS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

O corpo humano desempenha suas funções biológicas de modo preciso e altamente regulado. Os tecidos controlam minuciosamente a produção e a liberação de sinais de crescimento, bem como o início ou a progressão do ciclo de divisão celular (GAO; LIU, 2019). Dessa forma, são asseguradas a homeostase do número de células e a conservação do tecido normal (ERNST; BALLWEG; LEVENTAL, 2018). Contudo, o câncer pode surgir a partir de lesões genéticas que desencadeiam a perda desse equilíbrio molecular, conduzindo à transformação celular (TYSNES; BJERKVIG, 2007).

A palavra câncer é utilizada para representar um conjunto de doenças complexas que têm como principais características o crescimento anormal e a replicação desordenada de um conjunto de células (ROY; SAIKIA, 2016). Portanto, estas não obedecem ao controle do ciclo celular e não sinalizam para apoptose (HASSANPOUR; DEHGHANI, 2017). Além disso, para suprir suas necessidades nutricionais e à demanda por oxigênio, liberam proteínas que estimulam a angiogênese, o que favorece o desenvolvimento da massa tumoral (LUGANO; RAMACHANDRAN; DIMBERG, 2019). As células cancerígenas são capazes de invadir tecidos próximos e de se desprenderem de sua massa inicial, deslocando-se através da corrente sanguínea ou sistema linfático para outras regiões do corpo, até se fixarem em um novo local, caracterizando, assim, as metástases (DAS *et al.*, 2020).

Em 2000 Hanahan e Weinberg propuseram uma estrutura lógica para a compreensão do desenvolvimento neoplásico, apontando seis capacidades biológicas (*Hallmarks*) que essas células adquirem como auto-suficiência em sinais de crescimento, insensibilidade à inibição, evasão à morte celular programada, angiogênese sustentada, invasão tecidual e potencial replicativo ilimitado (HANAHAHAN; WEINBERG, 2000). Em 2011, ainda pelos mesmos pesquisadores, foram apontadas como características adicionais, a reprogramação do metabolismo energético e a evasão da resposta imune, o que favorece o processo inflamatório, a ocorrência de novas mutações e o agravamento a instabilidade genômica (HANAHAHAN; WEINBERG, 2011).

Fatores intrínsecos e extrínsecos estão associados ao surgimento e ao desenvolvimento dos cânceres. Aproximadamente 95% das causas são decorrentes de mutações, translocações cromossômicas, amplificações de genes e mudanças epigenéticas provenientes da exposição a diversas condições ambientais. Dentre estas, destacam-se as radiações ionizantes

e não ionizantes, os produtos químicos, os agentes infecciosos e os hábitos e comportamentos danosos, como tabagismo, alcoolismo, obesidade e alimentação não-balanceada (LEWANDOWSKA *et al.*, 2019). Ainda, podem ser provocados por razão hereditária, relativo ao histórico familiar, pela etnia e pela predisposição genética (WU, *et al.* 2018).

As neoplasias malignas são consideradas a principal causa de mortalidade no mundo (SUNG *et al.*, 2021). Em 2020, segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC, 2020), ocorreram cerca de 19,3 milhões de novos casos, com aproximadamente 10 milhões de óbitos causados pela doença. O Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA, 2020) estima que, para o triênio 2020- 2022, são esperados cerca de 625 mil novos casos de câncer no Brasil.

O impacto socioeconômico causado por essas doenças é alarmante, com custo anual total de aproximadamente 1,16 trilhão de dólares (WHO, 2018). Devido à sua alta incidência e morbidade, o câncer é considerado um grave problema de saúde pública em escala global. Diante de sua relevância epidemiológica e sua complexidade clínica e biológica, estudos buscam a compreensão de seu comportamento e dos eventos moleculares concernentes em sua iniciação e progressão, para, consequentemente, aperfeiçoar o prognóstico e a melhorar a sobrevida dos pacientes.

2. BIOSSENSORES E O CÂNCER

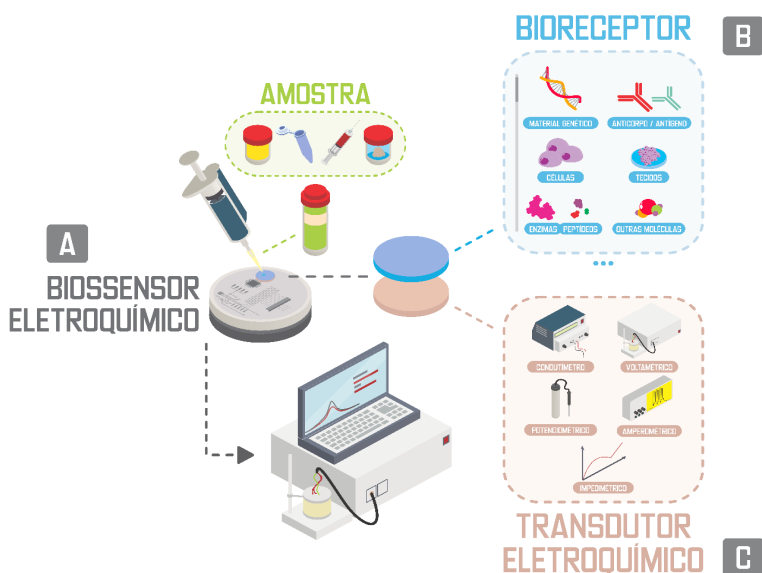
A detecção do câncer em estágios iniciais é essencial para a cura. Para isso, o diagnóstico precoce de pessoas com sinais ou sintomas da doença, o rastreamento de pessoas assintomáticas, aparentemente saudáveis, e o encaminhamento para investigação e tratamento, caso apresentem lesões indicativas de câncer, são estratégias fundamentais. O rastreamento deve ser realizado com o uso de um teste seguro, econômico, sensível, específico, de fácil aceitação pela população e relação custo-eficácia comprovada (WHO, 2007).

Muitos dos métodos de diagnóstico atuais são invasivos dispendiosos e penosos. São métodos que requerem pessoal treinado, adição de reagentes e etapas extensas de preparação da amostra, aumentando o tempo para a liberação dos resultados com valor agregado e, por vezes, inviável à população em geral (XIAO *et al.*, 2018; SHEN *et al.*, 2020). Portanto, as técnicas bioanalíticas alternativas utilizam um elemento de bioreconhecimento seletivo e, em combinação com um sistema analítico, se mostram inovadoras e economicamente viáveis para a detecção de diferentes doenças, incluindo o câncer. Nesse sentido, os biossensores são fortes candidatos para o desenvolvimento de uma plataforma inovadora revolucionando a prática clínica, uma vez que possuem propriedades superiores como a facilidade de uso, alta sensibilidade, baixo limite de detecção, baixo custo e excelente especificidade. Adicionalmente, são passíveis de miniaturização e necessitam

de mínima quantidade de energia para funcionamento (WANG, 2002).

Um biossensor, ou sensor biológico, como representado na Figura 1, é um dispositivo analítico que contém um material biológico sensível (bioreceptor) imobilizado a um transdutor, para produzir um sinal quantitativo e proporcional à concentração do analito em questão (HEALY *et al.*, 2007). Dependendo do tipo de transdutor ou de acordo com a natureza da resposta biológica, os biossensores podem ser eletroquímicos, piezoelétricos e ópticos (HASAN *et al.*, 2021).

Figura 1: Representação esquemática dos componentes de um biossensor



Legenda - A) Análise de amostras de fluidos biológicos, após a imobilização do bioreceptor. B) Bioreceptores utilizados. C) Transdutores eletroquímicos capazes de gerar respostas analíticas

Os biossensores eletroquímicos têm sido amplamente explorados na detecção do câncer (FELIX; ANGNES, 2018; GIAN *et al.*, 2021; NUR *et al.*, 2021; SHAFIEI *et al.*, 2021; TABISH *et al.*, 2021). Em geral utilizam transdutores a base de materiais condutores e semicondutores como ouro, carbono e platina (SONG *et al.*, 2018; BUK; PEMBLE, 2019; JIMÉNEZ-FIÉRREZ *et al.*, 2020). O transdutor é um componente essencial do biossensor eletroquímico, pois converte uma resposta bioquímica proveniente da interação ou ligação entre as biomoléculas-alvo e as biomoléculas de reconhecimento, em uma resposta quantificável por técnicas eletroquímicas (CHERAGHI *et al.*, 2022).

Estas podem ser divididas em potenciometria, condutometria, voltametria e amperometria. Envolvem o uso de três tipos de eletrodos em uma solução eletrolítica incluindo os de trabalho, de referência e eletrodos auxiliares ou contra eletrodos (HERNANDEZ-VARGAS *et al.*, 2018; NUR *et al.*, 2021). Os eletrodos de trabalho atuam como transdutores, traduzindo os sinais da reação bioquímica do bioreceptor com o analito. Eletrodos de referência têm a função de fornecer um potencial estável. Em contraste, eletrodos auxiliares descrevem o fluxo da solução eletrolítica (NUR *et al.*, 2021).

A imobilização do material biológico sobre a superfície do transdutor é uma etapa crucial no desenvolvimento de um biossensor (WANG, 2002). Diversos nanomateriais fornecem superfícies biocompatíveis para imobilização de elementos biológicos, ajudando a reter as biomoléculas com alta estabilidade (FELIX; ANGNES, 2018). Têm sido utilizados nanopartículas de ouro (SHAFIEI *et al.*, 2021), nanomateriais de carbono (SHEKARI *et al.*, 2021), nanopartículas magnéticas (WANG *et al.*, 2021) e *quantum dots* (TABISH *et al.*, 2021). Além disso, a modificação do eletrodo com materiais que promovem o aumento da área de superfície pode elevar sua sensibilidade e fazer com que atinjam menores limites de detecção (FELIX; ANGNES, 2018).

Os biossensores eletroquímicos permitiram avanços na detecção de diferentes doenças em várias matrizes, utilizando detecção direta (amostras livres de preparação) (ANTIPCHIK *et al.*, 2021) detecção rápida em plataformas de baixo custo (FONSECA ALVES, DA *et al.*, 2019), detecção multiplexada (FU *et al.*, 2020) e detecção via *wireless* (GIANG *et al.*, 2021). Como resultado, os biossensores são plataformas interessantes à prática clínica.

3. BIOSSENSORES BASEADOS EM PEPTÍDEOS COMO FASE DE BIORECONHECIMENTO

Os processos de detecção de biomarcadores estão focados principalmente no rastreamento de proteínas presente na superfície da membrana das células tumorais e/ou ácidos nucleicos associados a patologia (HASAN *et al.*, 2021). Para detectar biomarcadores, os biossensores utilizam vários elementos de reconhecimento biológico, como anticorpos, enzimas, ácidos nucleicos (DNA, RNA), células, ou outras biomoléculas específicas que são imobilizadas na superfície transdutora (YANG *et al.*, 2019). Apesar da alta especificidade dessas biomoléculas, a estabilidade, principalmente, limita o uso desses elementos de biorechecimento, uma vez que são extremamente sensíveis a alterações de pH e temperatura, o que pode afetar o seu desempenho e sua capacidade de reconhecimento (SONG *et al.*, 2020). Os peptídeos então surgem para superar essas dificuldades.

Peptídeos são formados por curtos polímeros, naturais ou sintéticos de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, sendo mais curtos que proteínas

(KATSOYANNIS, 1961). Os peptídeos são versáteis e podem se apresentar como estruturas primárias ou secundárias, o que garante uma notável capacidade e flexibilidade de reconhecimento, uma vez que se adaptam estericamente a moléculas alvo e formam diferentes tipos de interações e/ou ligações não covalentes. Como apresentam o mesmo bloco de construção das proteínas, podem substituí-las em análises biológicas. Além disso, são facilmente sintetizados, com expressiva seletividade, especificidade, e estabilidade em condições extremas de pH e temperatura. Assim, peptídeos sintéticos como elementos de bioreconhecimento são bastante interessantes para a construção de biossensores (VANOVA *et al.*, 2021).

Os biossensores baseados em peptídeos exibem propriedades excelentes e oferecem a oportunidade de fabricação da plataforma em grande escala. São estáveis por períodos prolongados e as perspectivas para o campo do biossensoriamento são animadoras devido à sua biocompatibilidade, alta condutividade e abundância de material eletroquímico de baixo custo (KARIMZADEH *et al.*, 2018). Nesse sentido, novos métodos de diagnóstico baseados em biossensores utilizando peptídeos ligantes selecionados por *Phage Display* podem ser um caminho promissor na detecção de diversos tumores, facilitando o diagnóstico precoce e aumentando as chances de sucesso no tratamento e cura dos pacientes oncológicos. Uma representação esquemática das etapas de pesquisa para desenvolvimento dessa metodologia é apresentada na Figura 2.

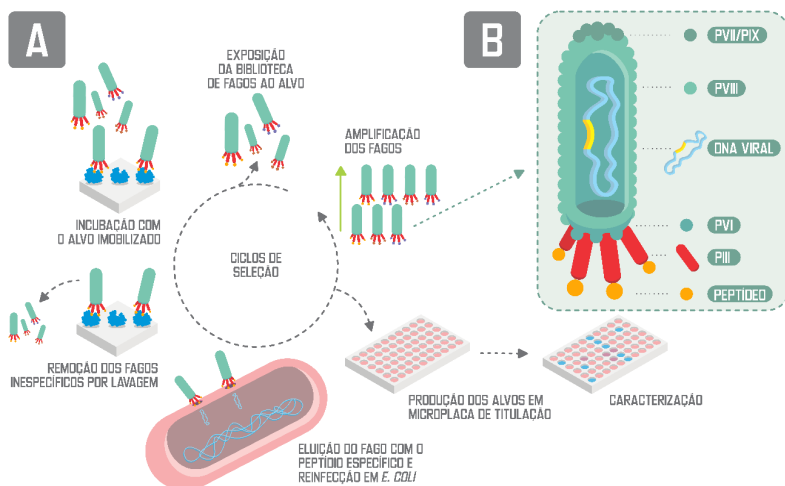
Figura 2: Representação esquemática das etapas para construção de um biossensor eletroquímico baseado em peptídeos selecionado por **Phage Display**



A tecnologia de *Phage Display*, idealizada por Smith (1985), é um método empregado para identificar, isolar e caracterizar proteínas e peptídeos com alta afinidade e especificidade a um alvo de interesse (TAN *et al.*, 2016). A técnica é baseada em bacteriófagos recombinantes contendo sequências de DNA codificantes em seu genoma, de forma que sejam capazes de expressar e expor peptídeos/proteínas aleatórios fusionados às proteínas endógenas da superfície de seu capsídeo viral (SMITH, 1985). Estes vetores para clonagem são partículas virais não envelopadas e filamentosas que infectam procariotos (RUSSEL; LOWMAN; CLACKSON, 2004).

Para selecionar os ligantes de interesse, as bibliotecas de peptídeos passam por um processo denominado *biopanning*, ou biosseleção (Figura 3A), o qual consiste em etapas de ligação ao alvo, lavagem dos fagos não ligados e inespecíficos, eluição (competitiva ou ácida), para recuperação dos vírus de interesse, e amplificação destes em bactérias (SAW; SONG, 2019). Ao final de cada ciclo, os clones de fagos recuperados são titulados e submetidos a uma nova rodada, para que haja o enriquecimento de suas sequências específicas ao alvo. Após cerca de três a cinco *rounds* de seleção, os clones individuais escolhidos são sequenciados para a identificação de seus aminoácidos e síntese química para testes sem a interferência da partícula viral (MIMMI *et al.*, 2019).

Os melhores vetores de apresentação de fagos são aqueles cujas funções básicas não são alteradas pela inserção de um DNA exógeno. Fagos filamentosos M13 são comumente escolhidos, pois apresentam ciclo de vida lisogênico e, conseqüentemente, não lisam a célula hospedeira após a infecção. Esses vírus causam apenas uma queda na replicação bacteriana e a liberação contínua de novos fagos (BARBAS *et al.*, 2001). Infectam bactérias gram-negativas, como *Escherichia coli*, que possuem *pillus* F, através do qual o material genético do vírus é inserido (RAKONJAC *et al.*, 2017). Estruturalmente, o fago M13 é envolto por cinco proteínas (pIII, pVI, pVII, pVIII e pIX) com, aproximadamente, 2800 cópias de pVIII e cinco cópias de pIII, como representado na Figura 3B. Bibliotecas de peptídeos fusionadas à pIII possuem baixa representatividade em relação à pVIII. Contudo, são mais indicadas para a descoberta de ligantes com alta afinidade (CABILLY, 1999).

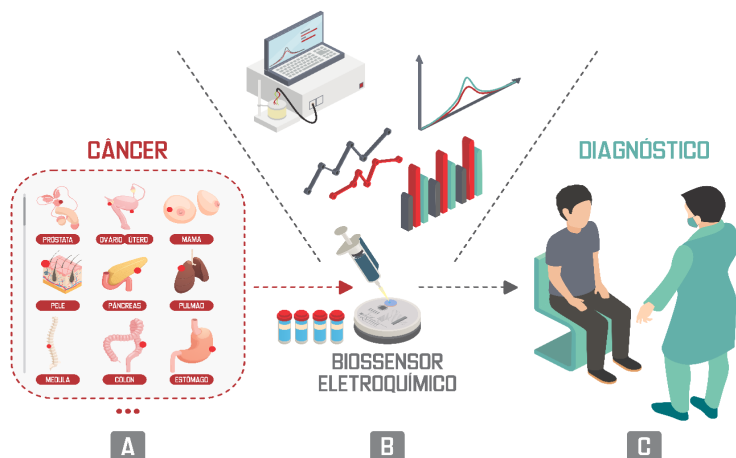
Figura 3: Fluxo de trabalho para a seleção de ligantes por **Phage display**

Legenda - A) Bibliotecas de fagos recombinantes podem ser construídas por engenharia genética, ao inserir sequências aleatórias de material genético codificante em regiões específicas do genoma viral. A triagem é realizada por ciclos de seleção contra os alvos de interesse. Depois de capturados os fagos expressando os peptídeos ligantes, estes são amplificados em *Escherichia coli*. Cada ciclo inclui os passos de interação/lavagem/amplificação, visando aumentar a pressão de seleção em favor de clones específicos. Após o biopanning, os clones individuais são caracterizados por sequenciamento de DNA e suas sequências sintetizadas para validação e análises subsequentes. **B)** Esquema representativo da biologia estrutural do bacteriófago M13

Os avanços recentes na aplicação de nanomateriais, como amplificação de sinal no desenvolvimento de biossensores baseados em peptídeos tem sido fundamentais na aplicação de novos biomarcadores. As propriedades exclusivas dos nanomateriais permitiram a evolução dos métodos eletroanalíticos, os quais vêm se tornando mais simples e altamente sensíveis. Há ainda a oportunidade de miniaturização. Biossensores eletroquímicos implantáveis ou vestíveis para a detecção *in vivo* de biomarcadores e a análise em tempo real são inovadores (MATHEW; ROUT, 2021). Dado o impressionante progresso em sistemas eletroquímicos baseados em nanoestruturas, não há dúvidas de que biossensores baseados em peptídeos terão um grande impacto no diagnóstico clínico de POC (*point-of-care*) (BUENO *et al.*, 2017). De fato, a detecção de biomarcadores está mudando para dispositivos baseados em chips e para análises menos invasivas. Avanços na microeletrônica, nanofluídica, polímeros e microfabricação permitiram a criação do *lab-on-chip* como uma nova ferramenta para o desenvolvimento de biossensores eletroquímicos que

podem ser aplicados a estudos de alto nível, como investigações do tráfico de células, direcionamento de tumor e diagnóstico de cânceres (Figura 4) (HAJI MOHAMMADI *et al.*, 2021).

Figura 4: Representação esquemática do uso de biossensores na prática clínica como ferramenta auxiliar de diagnóstico oncológico



Por fim, há uma alta demanda por biossensores eficientes para análise rápida de alterações celulares, para detectar biomarcadores relacionados e melhorar o prognóstico e as estratégias de tratamento dos cânceres. Os biossensores eletroquímicos são o método de detecção mais relatado para a detecção desses alvos. Portanto, mais estudos são necessários na fabricação de transdutores eletroquímicos para aumentar a estabilidade e reprodutibilidade dos dispositivos de detecção (HASAN *et al.*, 2021). Com o rastreamento em massa da doença em tempo hábil, pode-se avaliar seu risco de ocorrência em populações vulneráveis e ajudar na medicina personalizada, com a previsão de terapia e prognóstico. Assim, progressos tecnológicos com relação à fabricação de dispositivos biossensores baseados em peptídeos para o diagnóstico precoce do câncer têm potencial para fornecer opções de tratamento fáceis e economicamente viáveis para a sociedade (RANJAN *et al.*, 2020).

4. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (bolsa #2019/10452-2), à FAPESP (bolsa #2019/11776 e Projeto APQ-00760-18), CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro concedido em apoio a este trabalho.

REFERÊNCIAS

ANTIPCHIK, M.; KORZHIKOVA-VLAKH, E.; POLYAKOV, D.; et al. An electrochemical biosensor for direct detection of hepatitis C virus. **Analytical Biochemistry**, v. 624, p. 114196, 2021.

BARBAS, C. F. et al. **Phage Display. A laboratory manual**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, v. 2001.

BUENO, L.; ARAUJO, W. R. DE; PAIXÃO, T. R. L. C. 8 - Point of care (POC) medical biosensors for cancer detection. In: R. J. B. T.-M. B. for P. of C. (POC) A. Narayan (Ed.). p.183–201, 2017.

BUK, V.; PEMBLE, M. E. A highly sensitive glucose biosensor based on a micro disk array electrode design modified with carbon quantum dots and gold nanoparticles. **Electrochimica Acta**, v. 298, p. 97–105, 2019.

CABILLY, S. The Basic Structure of Filamentous Phage and its Use in the Display of Combinatorial Peptide Libraries. **Molecular Biotechnology**, v. 12, n. 2, p. 143-148, 1999.

CHERAGHI, S.; TAHER, M. A.; KARIMI-MALEH, H.; et al. Novel enzymatic graphene oxide based biosensor for the detection of glutathione in biological body fluids. **Chemosphere**, v. 287, p. 132187, 2022.

DAS, S. S. et al. Molecular insights and novel approaches for targeting tumor metastasis. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 585, p. 119556, 2020.

ERNST, R.; BALLWEG, S.; LEVENTAL, I. Cellular mechanisms of physicochemical membrane homeostasis. **Current Opinion In Cell Biology**, v. 53, p. 44-51, 2018.

FELIX, F. S.; ANGNES, L. Electrochemical immunosensors – A powerful tool for analytical applications. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 102, p. 470–478, 2018.

FONSECA ALVES, R. DA; FRANCO, D. L.; CORDEIRO, M. T.; et al. Novel electrochemical genosensor for Zika virus based on a poly-(3-amino-4-hydroxybenzoic acid)-modified pencil carbon graphite electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 296, p. 126681, 2019.

FU, P.; XING, S.; XU, M.; ZHAO, Y.; ZHAO, C. Peptide nucleic acid-based electrochemical biosensor for simultaneous detection of multiple microRNAs from cancer cells with catalytic hairpin assembly amplification. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 305, p. 127545, 2020.

GAO, S.; LIU, F. Novel insights into cell cycle regulation of cell fate determination. **Journal Of Zhejiang University-Science B**, v. 20, n. 6, p. 467-475, 2019.

GIANG, N. N.; WON, H. J.; LEE, G.; PARK, S. Y. Cancer cells targeted visible light and alkaline Phosphatase-Responsive TiO₂/Cu²⁺ carbon Dots-Coated wireless

electrochemical biosensor. **Chemical Engineering Journal**, v. 417, p. 129196, 2021.

HAJI MOHAMMADI, M.; MULDER, S.; KHASHAYAR, P.; et al. Saliva Lab-on-a-chip biosensors: Recent novel ideas and applications in disease detection. **Microchemical Journal**, v. 168, p. 106506, 2021.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R, A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57-70, 2000.

HANAHAN, D; WEINBER, R, A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n.5, p. 646-74, 2011.

HASAN, M. R.; AHOMMED, M. S.; DAIZY, M.; et al. Recent development in electrochemical biosensors for cancer biomarkers detection. **Biosensors and Bioelectronics: X**, v. 8, p. 100075, 2021.

HASSANPOUR, H.S.; DEHGHANI, M. Review of cancer from perspective of molecular. **Journal of Cancer Research And Practice**, v. 4, n. 4, p. 127-129, 2017.

HEALY, D. A.; HAYES, C. J.; LEONARD, P.; MCKENNA, L.; O'KENNEDY, R. Biosensor developments: application to prostate-specific antigen detection. **Trends in Biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 125–131, 2007.

HERNANDEZ-VARGAS, G.; SOSA-HERNÁNDEZ, J. E.; SALDARRIAGA-HERNANDEZ, S.; et al. Electrochemical biosensors: A solution to pollution detection with reference to environmental contaminants. **Biosensors**, v. 8, n. 2, p. 29, 2018.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. 2020. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>>

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. 2020. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>>.

JIMÉNEZ-FIÉRREZ, F.; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, M. I.; JIMÉNEZ-PÉREZ, R.; INIESTA, J.; VALERO, E. Glucose biosensor based on disposable activated carbon electrodes modified with platinum nanoparticles electrodeposited on poly (Azure A). **Sensors**, v. 20, n. 16, p. 4489, 2020.

KARIMZADEH, A.; HASANZADEH, M.; SHADJOU, N.; GUARDIA, M. DE LA. Peptide based biosensors. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 107, p. 1–20, 2018.

KATSOYANNIS, P. G. Peptide synthesis and protein structure. **Journal of Polymer Science**, v. 49, n. 151, p. 51–74, 1961.

LEWANDOWSKA, A. *et al.* Environmental risk factors for cancer – review paper. **Annals Of Agricultural And Environmental Medicine**, v. 26, n. 1, p. 1-7, 2019.

LUGANO, R.; RAMACHANDRAN, M.; DIMBERG, A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. **Cellular And Molecular Life Sciences**, v. 77, n. 9, p. 1745-1770, 2019.

MATHEW, M.; ROUT, C. S. Electrochemical biosensors based on Ti3C2Tx MXene: future perspectives for on-site analysis. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 30, p. 100782, 2021.

MIMMI, S. *et al.* Phage Display: an overview in context to drug discovery: An Overview in Context to Drug Discovery. **Trends In Pharmacological Sciences**, v. 40, n. 2, p. 87-91, 2019.

NUR, Y.; GAFFAR, S.; HARTATI, Y. W.; SUBROTO, T. Applications of electrochemical biosensor of aptamers-based (APTASENSOR) for the detection of leukemia biomarker. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 32, p. 100416, 2021.

RANJAN, P.; PARIHAR, A.; JAIN, S.; *et al.* Biosensor-based diagnostic approaches for various cellular biomarkers of breast cancer: A comprehensive review. **Analytical Biochemistry**, v. 610, p. 113996, 2020.

RAKONJAC, J. *et al.* Filamentous Phage: structure and biology: Structure and Biology. **Recombinant Antibodies For Infectious Diseases**, p. 1-20, 2017.

ROY, P S; SAIKIA, B J. Cancer and cure: A critical analysis. **Indian journal of cancer**, v. 53, n. 3, p. 441-442, 2016.

RUSSEL, M., LOWMAN, H. B., CLACKSON, T. Introduction to phage biology and phage display. **Phage Display**, v. 266, 2004.

SAW, P. E.; SONG, E. Phage display screening of therapeutic peptide for cancer targeting and therapy. **Protein & Cell**, v. 10, n. 11, p. 787-807, 2019.

SHAFIEI, F.; SABERI, R. S.; MEHRGARDI, M. A. A label-free electrochemical aptasensor for breast cancer cell detection based on a reduced graphene oxide-chitosan-gold nanoparticle composite. **Bioelectrochemistry**, v. 140, p. 107807, 2021.

SHEKARI, Z.; ZARE, H. R.; FALAHATI, A. Dual assaying of breast cancer biomarkers by using a sandwich-type electrochemical aptasensor based on a gold nanoparticles-3D graphene hydrogel nanocomposite and redox probes labeled aptamers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 332, p. 129515, 2021.

SHEN, M.; LI, N.; LU, Y.; CHENG, J.; XU, Y. An enhanced centrifugation-assisted lateral flow immunoassay for the point-of-care detection of protein biomarkers. **Lab on a Chip**, v. 20, n. 15, p. 2626-2634, 2020.

SMITH, G. P. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. **Science**, v. 228, p. 1315-1337, 1985.

SONG, Y.; XU, M.; GONG, C.; *et al.* Ratiometric electrochemical glucose biosensor

based on GOD/AuNPs/Cu-BTC MOFs/macroporous carbon integrated electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 257, p. 792–799, 2018.

SONG, Z.; CHEN, M.; DING, C.; LUO, X. Designed three-in-one peptides with anchoring, antifouling, and recognizing capabilities for highly sensitive and low-fouling electrochemical sensing in complex biological media. **Analytical chemistry**, v. 92, n. 8, p. 5795–5802, 2020.

SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

TABISH, T. A.; HAYAT, H.; ABBAS, A.; NARAYAN, R. J. Graphene quantum dot-based electrochemical biosensing for early cancer detection. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 30, p. 100786, 2021.

TAN, Y. *et al.* Advance in phage display technology for bioanalysis. **Biotechnology Journal**, v. 11, n. 6, p. 732-745, 2016.

TYSNES, B; BJERKVIG, R. Cancer initiation and progression: involvement of stem cells and the microenvironment. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Reviews On Cancer**, v. 1775, n. 2, p. 283-297, 2007.

VANOVA, V.; MITREVSKA, K.; MILOSAVLJEVIC, V.; *et al.* Peptide-based electrochemical biosensors utilized for protein detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 180, p. 113087, 2021.

WANG, J. Electrochemical nucleic acid biosensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 469, n. 1, p. 63–71, 2002.

WANG, Q.; LIU, J.; ZENG, J.; *et al.* Determination of miRNA derived from exosomes of prostate cancer via toehold-aided cyclic amplification combined with HRP enzyme catalysis and magnetic nanoparticles. **Analytical Biochemistry**, v. 630, p. 114336, 2021.

WHO. **Cancer Control: Knowledge into Action: WHO Guide for Effective Programmes: Module 3: Early Detection**. Geneva, 2007.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**. 2018. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>

WU, S. *et al.* Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 3490, 2018.

XIAO, Q.; WU, J.; DANG, P.; JU, H. Multiplexed chemiluminescence imaging assay of protein biomarkers using DNA microarray with proximity binding-induced hybridization chain reaction amplification. **Analytica chimica acta**, v. 1032, p. 130–137, 2018.

YANG, G.; XIAO, Z.; TANG, C.; *et al.* Recent advances in biosensor for detection of

lung cancer biomarkers. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 141, p. 111416, 2019.

PHAGE DISPLAY IN THE DEVELOPMENT OF BIOSENSORS APPLIED TO ONCOLOGY

ABSTRACT - Malignant neoplasms are considered the main cause of mortality in the world. Early detection of the disease is critical for effective treatment, however current diagnostic strategies are limited. In this sense, the discovery of tumor biomarkers is a promising alternative, especially when associated with innovative technologies that can be miniaturized. The Phage Display technique allows selecting peptides that bind to the most diverse targets, overcoming the heterogeneity of tumors, and opening paths for the evolution of clinical practices. The selected peptides, in addition to presenting high affinity, purity, and low cost, can be used in biosensors, in a biotechnological recognition interface. Biosensors, in turn, are a fast, accessible, reliable, sensitive, and easy-to-use platform. In this chapter, the main aspects related to tumors and the current challenges in diagnosing the disease are addressed, as well as the use of the Phage Display technique in the discovery of new biomarkers. Finally, the benefits of biosensors and their versatility are presented, in which basic and applied science converge to the solution of public health problems.

KEYWORDS: Cancer; Biosensors; Peptides; Phage Display.

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES EM MULHERES COM ENDOMETRIOSE E DOR USUÁRIAS DO IMPLANTE COM ETONOGESTREL OU SISTEMA INTRAUTERINO COM LEVONORGESTREL: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Deborah Margatho

UNICAMP, Campinas, São Paulo

lattes.cnpq.br/2809324029940282

Nelsilene Mota Carvalho

UNICAMP, Campinas, São Paulo

Luis Bahamondes

UNICAMP, Campinas, São Paulo

RESUMO - A endometriose é uma doença pélvica benigna e inflamatória, em que há tecido endometrial extrauterino. O tratamento visa reduzir a inflamação. O objetivo deste estudo foi avaliar os escores de dor pélvica crônica, dismenorreia, níveis séricos dos marcadores CA-125 e CD 23 e densidade de fibras nervosas em mulheres com dor associada à endometriose antes e após 6 meses do uso do sistema intrauterino com levonorgestrel (SIU-LNG) com 52 mg ou do implante com etonogestrel (ENG). Foi realizado um ensaio clínico, aberto, randomizado, conduzido no Departamento de Tocoginecologia da UNICAMP, entre 2016 e 2017. Foram incluídas 103 mulheres com dor pélvica e endometriose. Foram alocadas 52 mulheres para

o implante com ENG e 51 para o SIU-LNG. As avaliações dos escores de dor pélvica, dismenorreia e dos biomarcadores foram realizadas ao início e após 180 dias. Ambos os tratamentos reduziram os escores de dor pélvica crônica, dismenorreia, as concentrações de CD 23 solúvel e densidade de fibras nervosas ($p < 0.001$); entretanto, apenas o CA-125 mostrou redução significativa entre as usuárias do implante com ENG ($p < 0.05$). Nenhuma correlação foi observada entre a redução dos escores de dor e dismenorreia com a redução dos biomarcadores. Ambos os contraceptivos reduziram significativamente as concentrações do CD 23 solúvel e a densidade de fibras nervosas; entretanto, apenas as concentrações do CA 125 reduziram entre as usuárias do implante com ENG. A redução dos biomarcadores não foi correlacionada à melhora dos escores de dor pélvica e dismenorreia. Nenhuma diferença foi observada entre as usuárias do implante com ENG e do SIU-LNG.

PALAVRAS-CHAVE: Endometriose; Dor pélvica crônica; Dismenorreia; Sistema intrauterino liberador de levonorgestrel; Implante de etonogestrel; CA-125, CD-23 solúvel; Densidade de fibras nervosas.

1. INTRODUÇÃO

A endometriose é uma doença benigna, inflamatória, estrogênio dependente que afeta mulheres em idade reprodutiva (Dunselman *et al.*, 2014; Bedaiwy *et al.*, 2017). É diagnosticada ao se encontrar tecido endometrial, com padrão glandular ou estromal, fora da cavidade uterina induzindo uma resposta inflamatória crônica culminando em dor pélvica, infertilidade ou mesmo ausência de sintomatologia (Bedaiwy *et al.*, 2017; Nap, 2012). Os sinais e sintomas associados à endometriose indicativos de propedêutica especializada para o diagnóstico são dismenorreia, dor pélvica crônica, dor pélvica não cíclica, dispareunia de profundidade e infertilidade (Subramanian e Agarwal, 2010); Vercellini *et al.*, 2014; Brown *et al.*, 2015).

A endometriose é uma patologia que foi descrita pela primeira vez em 1860 pelo médico patologista Carl Von Rockitansky (Nezhat *et al.*, 2012). Em 1921 John Sampson propôs a teoria mais aceita até a atualidade, em que sugeriu que o fluxo retrogrado menstrual fosse o principal fator na sua etiopatogenia (Nezhat *et al.*, 2012; Vercellini *et al.*, 2014). Há outras teorias que tentam explicar a etiologia da endometriose, embora elas ainda sejam insuficientes para estabelecer relação causa e efeito. Dentre estas incluem a modificação de células epiteliais na superfície peritoneal (por metaplasia celômica), metaplasia de remanescentes embrionários dos ductos de Müller, anormalidades do sistema imunológico, a disseminação de células endometriais através da circulação ou do sistema linfático, susceptibilidade genética (Burney e Giudice, 2012). Embora a teoria da menstruação retrógrada se mostre a mais convincente na patogênese da endometriose, ela não consegue explicar as diferentes formas de apresentação da doença, como endometriose cerebral, pulmonar, em cicatriz cirúrgica e a rara ocorrência em homens (Subramanian e Agarwal, 2010). Nisolle e Donnez, propuseram que a endometriose peritoneal, nódulos de adeniose, endometriose de septo retovaginal e endometriomas teriam patogêneses diferentes (Nisolle e Donnez, 1997). Em estudos mais recentes, foi proposto que a recorrência de dano tecidual com reparo pela menstruação retrógrada levaria a reação inflamatória local e fibrose ou levando a alterações epigenéticas, podendo ser o início da formação da lesão de endometriose profunda (Gordts *et al.*, 2017).

A prevalência da endometriose ainda permanece desconhecida, porém estima-se que seja em torno de 2 a 10% das mulheres em idade reprodutiva (Burney e Giudice, 2012; Dunselman *et al.*, 2014). Em mulheres que são submetidas a laparoscopia, a prevalência foi observada em 4,1% nas mulheres assintomáticas, 20 a 40% nas inférteis (Subramanian e Agarwal, 2010) e de até 60% naquelas com dor pélvica (Burney e Giudice, 2012; Bedaiwy *et al.*, 2017).

A endometriose continua sendo um desafio diagnóstico e terapêutico (Dunselman *et al.*, 2014). O diagnóstico considerado “padrão ouro” é cirúrgico, através da visualização de lesões por meio da laparoscopia ou laparotomia e necessariamente com confirmação anátomo-patológica da lesão (Dunselman

et al., 2014). As regiões geralmente mais acometidas são os ovários, ligamentos uterossacos, fundo de saco de Douglas e trato gastrointestinal (incidência de 12 a 37%), recesso vesico-vaginal e trato gênito-urinário (incidência entre 0,01 e 1,2%), peritônio pélvico, cervix uterina, vagina, tecido subcutâneo, tubas uterinas e diafragma.

Morfológicamente a endometriose pode se apresentar como superficial ou profunda e ovariana (Nisolle e Donnez, 1997). Na forma superficial ou peritoneal pode ocorrer nos ovários, no peritônio, serosas teciduais, apresenta-se como manchas ou pontos negros, acastanhados, nódulos, pequenos cistos com focos de hemorragia antiga, podendo ou não ocorrer fibrose ao redor. A endometriose ovariana é denominada endometrioma, e consiste em cistos ovarianos formados por tecido endometrial. A endometriose profunda é infiltrativa com nódulos aprofundando-se além de 5 mm da superfície peritoneal, pode envolver ligamentos útero-sacro, vagina, intestino, bexiga, ureteres associando-se a fibrose e hiperplasia muscular e infiltração nervosa (ASRM, 1997; Johnson *et al.*, 2016; Gordts *et al.*, 2017). A infiltração profunda promove quadro algico mais evidente por maiores chances de comprometimento nervoso (Dunselman *et al.*, 2014). No entanto há uma discrepância em muitos casos entre o nível de dor e o estadio (grau) de endometriose, isto exemplifica que a fisiopatologia da dor relacionada à endometriose se mostra incerta até o momento principalmente nos casos de endometriose peritoneal e dor pélvica crônica (Subramanian e Agarwal, 2010; Burney e Giudice, 2012).

Tendo em vista que o método padrão ouro para o diagnóstico da endometriose é cirúrgico, a classificação mais aceita é a da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM, 1997), por meio de escores pontuados, em que é dividida por graus e variando de I a IV, sendo I, endometriose mínima, com soma de pontos de um a cinco; II, endometriose leve, com seis a 15 pontos; III, endometriose moderada, com soma de pontos de 16 a 40 e IV, endometriose severa, com soma de pontos maior que 40 (ASRM, 1997).

Em 2005 foi proposta uma classificação por meio de escores para a avaliação da endometriose por métodos de imagem, especificamente pela ressonância nuclear magnética (RNM) (Chamie *et al.*, 2009) e posteriormente pela ultrassonografia (US), para descrições de endometriose profunda principalmente para mapear endometriose infiltrativa em retroperitônio e orientar o cirurgião no planejamento cirúrgico (Johnson *et al.*, 2016; Nisenblat *et al.*, 2016). Esta classificação, denominada Enzian, avalia a doença nos três compartimentos e seu envolvimento com estruturas retroperitoneais, severidade, presença de doença à distância, tamanho e bilateralidade (Haas *et al.*, 2013). É complementar ao escore da ASRM. Seu escore combina as estruturas por compartimentos anatômicos e grau de invasão. Sendo compartimento A: septo reto-vaginal e vagina, compartimento B ligamento útero-sacro e peritônio, compartimento C reto e sigmóide. Em relação ao grau

de invasão: grau 1, invasão menor que 1 cm; grau 2, invasão entre 1-3 cm; e grau 3, invasão maior que 3 cm.

O implante endometriótico promove uma resposta inflamatória local, proliferação celular, invasão e neoangiogênese, propiciando progressão e recorrência da doença (Burney e Giudice, 2012). Há aumento da produção de mediadores inflamatórios como citocinas e prostaglandinas (Bedaiwy *et al.*, 2017). Além de fatores de crescimento, hormônios, enzimas proteolíticas, auto-anticorpos, glicoproteínas e moléculas de adesão. Muitos marcadores biológicos têm sido pesquisados para melhor correlação, diagnóstico e controle de tratamento da endometriose (FASSBENDER *et al.*, 2015). As amostras estudadas são provenientes de fluidos peritoneais, tecido endometrial eutópico e ectópico, urina e sangue periférico (May *et al.*, 2010; Nisenblat *et al.*, 2016; Ahn *et al.*, 2017)

Dentre os diversos biomarcadores, o CA-125 é o mais estudado (May *et al.*, 2010; Nisenblat *et al.*, 2016; Ahn *et al.*, 2017; Yucel *et al.*, 2018). Trata-se de uma glicoproteína de alto peso molecular que se origina em células epiteliais normais produzidas pelo epitélio amniótico e celômico durante o período de desenvolvimento embrionário (mesotélio da pleura, pericárdio e peritônio). O aumento de sua concentração está associado a diversas patologias ginecológicas. Em células teciduais de adultos o CA-125 é detectado em epitélios de origem celômica normal e neoplásica, como epitélio endometrial, endocervical, epitélio das tubas de Falópio e células epiteliais de câncer ovariano. (ASMR, 1997; Mol *et al.*, 1998; Rosa e Silva *et al.*, 2007; Dunselman *et al.*, 2014).

Além de aumento de interleucinas promovido pela resposta inflamatória oriunda do implante endometriótico, ocorre ativação de citocinas, fatores de crescimento, que levarão à ativação de linfócitos B liberando com isso, uma concentração maior da fração solúvel do CD-23, expresso na membrana celular (May *et al.*, 2010; Odukoya *et al.*, 2018). É referido como receptor de baixa afinidade para IgE em células B, eosinófilos, monócitos, células dendríticas, epiteliais, células de Langerhans e plaquetas (Odukoya *et al.*, 1996; Ramos *et al.*, 2012).

A neoangiogênese está associada à sustentabilidade das lesões endometrióticas e a proliferação nervosa acompanha esse rico suprimento vascular (Burney e Giudice, 2012). Além do mais, o endométrio eutópico das pacientes com endometriose pode exibir um padrão aberrante de expressão molecular que lhe permite a habilidade de invasão e desenvolvimento do foco endometriótico ectópico (Ahn *et al.*, 2017). Isso poderia explicar a presença de pequenas fibras nervosas no endométrio e miométrio de pacientes com endometriose assim como nas lesões endometrióticas. A densidade destas fibras nervosas na camada funcional endometrial está aumentada em mulheres com endometriose (Tokushige *et al.*, 2006; Tokushige *et al.*, 2007; Al-Jefout *et al.*, 2009; Zevallos *et al.*, 2015) podendo haver uma correlação positiva com escores de dor perimenstrual (Newman *et al.*, 2013; Gupta *et*

al., 2016).

Em relação ao controle da dor dessas pacientes, há diversos tratamentos propostos, entre eles cirúrgicos com remoção de lesões e medicamentosos com objetivos de reduzir a lesão através da redução da produção estrogênica (Dunselman *et al.*, 2014; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2014). Existem medicações capazes de controlar e reduzir a dor associada a endometriose como os anti-inflamatórios não esteroides, os ACHOs, contraceptivos de somente progestogenio, drogas anti-progestogênicas, drogas anti-estrogênicas (danazol), agonistas do GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) e inibidores da aromatase (Dunselman *et al.*, 2014; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2014).

De todas as medicações que podem atuar no controle da dor, os contraceptivos de somente progestogenios são os que apresentam menores efeitos colaterais e passíveis de serem usados por longo prazo com baixos custos (Schindler *et al.*, 2003; Fraser, 2013; Brown e Farquhar, 2015; Bedaiwy *et al* 2017; Casper, 2017).

O LNG e ENG são progestogenios de segunda geração, derivados da 19-nortestosterona (Schindler *et al.*, 2003). Em estudos recentes observou-se que ocorre uma redução da sensibilidade à dor em mulheres saudáveis com uso de progestogenios com efeito androgênico como o ENG e o LNG, principalmente se utilizados por via não oral, por apresentarem níveis séricos constantes de progestogenio, colaborando na neuromodulação da dor e sua percepção (Fillingim *et al.*, 2000; Schindler *et al.*, 2003; Maximo *et al.*, 2015).

O LNG reduz a expressão de receptores de estrogênios e progestogênios endometriais com isso, induz à atrofia glandular endometrial e regula negativamente a proliferação de células do endométrio, aumenta a atividade apoptótica e tem efeitos anti-inflamatórios e imunomoduladores locais (Lockhat *et al.*, 2004; Bahamondes *et al.*, 2015). O SIU-LNG, disponível no Brasil, com o nome de Mirena® (Bayer Oy, Turku, Finlândia), libera 20 µg de LNG/dia (Bahamondes *et al.*, 2015). A distribuição da droga no organismo se apresenta em diferentes concentrações, cem vezes maior no endométrio em relação ao miométrio e mil vezes mais elevada no endométrio em relação aos níveis séricos. Vinte a trinta por cento das usuárias podem apresentar amenorréia, contribuindo para a redução da dismenorréia (<https://www.universomedico.com.br/produtos/bula/mirena-levonorgestrel.aspx>).

Em relação ao implante-ENG, comercializado com o nome de Implanon® (Organon, Oss, Holanda) no Brasil, apresenta-se na forma de um dispositivo plástico, com 4 cm de comprimento e 2 mm de diâmetro, contendo 68 mg de ENG (3-ketodesogestrel), metabólito ativo do desogestrel (https://saude.msd.com.br/products/implanon_nxt/index.xhtml). Age a nível hipofisário inibindo o LH e com isto, bloqueia a ovulação em mais de 95% das usuárias (Schindler *et al.*, 2003).

Há diversos estudos tanto prospectivos quanto ensaios clínicos randomizados em que o SIU-LNG provou ser eficaz no alívio de sintomas de dor pélvica, dismenorréia e dispareunia causadas pela endometriose após a cirurgia conservadora (Vercellini *et al.*, 1999; Fedele *et al.*, 2001; Lockhat *et al.*, 2004; Petta *et al.*, 2005; de Sá Rosa e Silva *et al.*, 2006; Dunselman *et al.*, 2014), com verificação de melhora dos sintomas associados à endometriose (de Sá Rosa e Silva *et al.*, 2006)

Em relação a estudos com o implante de ENG há um ensaio clínico randomizado que seguiu por 12 meses, 41 mulheres para avaliação de melhora da dor pélvica (Walch *et al.*, 2009). Um estudo prospectivo em que foram seguidas por 12 semanas, 50 mulheres com dor associada à endometriose e que receberam implante de ENG com melhora da dor (Ponpuckdee *et al.*, 2005). Há, ainda, na literatura um artigo publicado em 2005 com cinco relatos de casos sobre o uso do implante de ENG em mulheres com endometriose e dor pélvica com melhora das queixas clínicas em quatro casos (Yisa *et al.*, 2005).

A inflamação é uma das principais causas de dor na endometriose (Burney e Giudice, 2012). Vários mediadores e resposta imune local são conhecidos por mediar esta resposta (Ahn *et al.*, 2017). A quantificação de mais de um marcador biológico comparativamente à escala visual analógica (EVA) de dor permite uma maior coincidência assertiva (em relação à melhora da dor) quando comparada à avaliação de apenas um único marcador (Gerlinger *et al.*, 2010). A comparação de um grupo de marcadores com a resposta terapêutica positiva obtida através da melhora do escore de dor pode-se fazer inferência da redução da atividade proliferativa das células epiteliais das lesões endometrióticas.

O SIU-LNG e o implante-ENG podem ampliar o arsenal terapêutico para a redução do escore dor em pacientes acometidas pela endometriose com dor pélvica (Yucel *et al.*, 2018). Com o intuito de melhorar o quadro algico das mulheres com dor pélvica crônica associada à endometriose pode-se propor o uso de medicações hormonais com progestogênios, os quais apresentam boa tolerabilidade, baixos índices de efeitos colaterais, podem ser usadas a longo prazo e são de menores custos quando comparadas às medicações que acarretam hipoestrogenismo, como os agonistas do GnRH. A utilização de métodos hormonais somente de progestogênios, principalmente por via não oral, está associada ao aumento do limiar de dor em mulheres saudáveis (Máximo *et al.*, 2015) e redução das fibras nervosas sensoriais no endométrio de pacientes com dor associada à endometriose (Belsey *et al.*, 1986; Tokushige *et al.*, 2009; Fraser, 2013). Este mecanismo pode desempenhar um importante papel na redução da dor nas usuárias deste tipo de terapêutica.

A verificação das alterações nos níveis séricos de diferentes biomarcadores, como do CA-125, proveniente de expressão de células epiteliais, do CD-23 solúvel expresso pela membrana celular das células β

e da densidade de fibras nervosas no endométrio eutópico de mulheres com endometriose, comparativamente ao escore de dor, pode permitir se fazer alusão a melhora da resposta inflamatória. Além do mais, o uso de dois métodos hormonais com progestogenio com diferentes vias de administração pode colaborar na melhor escolha de prescrição em relação ao perfil de cada paciente. Com isso, o objetivo do estudo foi comparar os níveis séricos dos marcadores CA-125, CD-23 solúvel e densidade de fibras nervosas antes e aos 6 meses do uso do SIU-LNG ou do implante de ENG em mulheres com dor associada a endometriose.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1 Desenho do estudo

Foi realizado um ensaio clínico, randomizado, aberto, comparativo, no qual foram avaliados níveis séricos dos marcadores CA-125 e CD-23 solúvel e a densidade de fibras nervosas no endométrio de pacientes com dor associada à endometriose antes e aos 6 meses de uso do SIU-LNG ou do implante-ENG. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UNICAMP e o termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado pelos participantes antes da entrada no estudo, o recrutamento foi feito de junho de 2016 a outubro de 2017. O estudo foi registrado no Clinicaltrials.gov com o número NCT 02480647.

Para estarem incluídas nos critérios de inclusão, as mulheres tinham que possuir diagnóstico de endometriose por meio de cirurgia, classificadas de acordo com os critérios da ASMR (ASMR, 1997) ou por método de imagem, por ultrassonografia para pesquisa de endometriose profunda ou ressonância nuclear magnética, baseados nos critérios de Enzian. As participantes deveriam ter dor pélvica crônica e ou dismenorreia associada a endometriose com escore ≥ 4 baseada na escala visual analógica de dor (EVA). A escala visual analógica de dor é uma avaliação subjetiva em formato linear em que 0 representa ausência de dor e 10 a pior dor possível. Outros critérios de inclusão foram não estar grávida e nem ter desejo de engravidar nos próximos 12 meses, ter idade entre ≥ 18 e ≤ 45 anos e aceitar ser randomizada para o uso do implante de etonogestrel ou sistema intrauterino liberador de levonorgestrel. Os critérios de exclusão para o uso do implante de etonogestrel ou sistema intrauterino liberador de levonorgestrel foram estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2015). Os métodos foram colocados entre os primeiros cinco dias da menstruação. E as participantes foram vistas mensalmente até 6 meses após a inserção do método ou antes se houvesse expulsão ou desejo de retirada.

A randomização foi feita de 1:1, um total de 103 mulheres foram alocadas aleatoriamente através de esquema de randomização gerado por computador com envelopes opacos e selados, em dois grupos: 51 para

o sistema intrauterino liberador de levonorgestrel e 52 para o implante de etonogestrel. O implante-ENG foi o tratamento experimental e o SIU-LNG, o comparador ativo. O tamanho da amostra foi calculado com base na hipótese de não inferioridade do implante-ENG em relação ao SIU-LNG. Vários estudos de não inferioridade utilizando VAS para medir a dor utilizaram uma margem de não inferioridade de 1,5 cm (17). Considerou-se margem de não inferioridade de 1,5 cm - cm com desvio padrão (DS) de 2,5 cm. Foi necessário um tamanho amostral mínimo de 45 mulheres por braço de estudo em 0,05 nível de significância e potência igual a 0,80 para alcançar a não inferioridade. Levando em conta 10% dos abandonos, 50 mulheres tiveram que ser incluídas por braço de estudo. As análises foram realizadas como um estudo *intention-to-treat* (ITT), incluindo todas as mulheres randomizadas que tiveram pelo menos uma avaliação de eficácia.

2.2 Seguimento

As mulheres foram avaliadas inicialmente e após 6 meses em relação ao nível de dor pela escala visual analógica de dor. Amostras sanguíneas foram colhidas nestes tempos para avaliação de CA125 e CD 23 solúvel, além de biopsia endometrial com Pipelle de Cornier. O CA125 pode ter alteração com a menstruação, foi solicitado que as participantes anotassem um calendário de padrão menstrual. Os dados foram analisados conforme padrão de sangramento de 90 em 90 dias e classificados como amenorreia, na (ausência de menstruação), sangramento infrequente (1-2 episódios), sangramento regular, (3-5 episódios), frequente (> 5 episódios) e prolongado (> 14 dias consecutivos) ou sangramento de escapes (>14 dias de sangramento de escape).

2.3. Análises séricas e imuno-histoquímica

A determinação quantitativa do CA 125 foi realizada por imunoensaio de quimioluminescência sanduíche utilizando o kit de TM DE ® CA 125 II (DiaSorin, Saluggia, Itália). O limite de referência foi de 35 U/mL (percentil 95).

A determinação do CD 23 solúvel foi pelo método de imunoensaio da enzima eletroquimioluminimétrica de acordo com as instruções do fabricante utilizando o kit comercial, EBIOSCIENCE ELISA Human CD23 (Bender MedSystem, Viena, Áustria). A detecção dos níveis de CD23 variou de 10 a 91 U/mL e considerado indetectável em < 5,0 U/mL.

As reações imuno-histoquímicas para o anticorpo pgp9.5 (PGP9.5) Anticorpo Policlonal, 100ug Termo-38-1000 (Road Rockford, Estados Unidos) foram realizadas no Departamento de Patologia/UNICAMP em todos os casos. Os espécimes foram fixados imediatamente após a coleta em solução tamponada de 10 %formalina. O anticorpo primário foi colocado sobre as respectivas preparações histológicas nas diluições acima

mencionadas.

Após a coloração por imunohistoquímica, a densidade nervosa da fibra foi contada individualmente pelo campo de alta ampliação (400x). O escore (densidade) de cada participante foi dado pelo número médio de densidade nervosa de fibras dividida pelo número de campos contados.

2.4. Análise estatística

O perfil sociodemográfico da amostra foi descrito com frequência absoluta e valores percentuais. As estatísticas descritivas das variáveis numéricas foram descritas com valores médios, desvio padrão e intervalo de confiança de 95%. Para comparação das variáveis categóricas entre os dois grupos, foram utilizados os testes exatos χ^2 ou de Fisher (para valores esperados inferiores a 5). O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar as variáveis numéricas entre os dois grupos devido à ausência de distribuição normal das variáveis. O teste de Wilcoxon para amostras relacionadas foi utilizado para comparar variáveis numéricas entre pré e pós-tratamento devido à ausência de distribuição normal das variáveis. Para comparar as variáveis numéricas entre os 2 grupos e as 2 avaliações simultaneamente, utilizou-se a análise de variância para medições repetidas, seguida pelo teste Tukey (comparações intergrupos) e pelo perfil de contrastes (comparações intragrupos). As variáveis sem distribuição normal foram transformadas em estações/fileiras. Para a correlação entre as variáveis numéricas na amostra total e por grupo, utilizou-se coeficiente de correlação de Spearman para cada avaliação (inicial e final). O nível de significância adotado foi de 5%. Foi utilizada a versão 9.4 do programa de software SAS/STAT.

3. RESULTADOS

Cento e três participantes foram randomizadas. Cinquenta e duas mulheres entraram para o braço do implante-ENG e 51 para o braço do SIU-LNG. A idade média foi 33,4 anos para o grupo do implante-ENG e de 34,7 anos para o braço do SIU-LNG. Oitenta por cento das mulheres do braço do implante-ENG eram brancas e 76% do braço do SIU-LNG. Aproximadamente 50% das mulheres tinham entre 30 e 39 anos, e o IMC médio ($\pm$ SD) de massa corporal (kg/m²) era de $27,4 \pm 5,2$ kg/m².

A qualidade dos fragmentos de biópsia endometrial para análise imuno-histoquímica foi classificada como satisfatória e não satisfatória, caracterizada pela presença de muco e ausência de células endometrial nesta última. No grupo ENG, na linha de base, as biópsias foram 3,8% não satisfatórias e 96,2% satisfatórias para análise. No grupo SIU-LNG, 15,7% das biópsias não foram satisfatórias e 84,3% foram satisfatórias para análises na linha de base. No entanto, após até 180 dias de observação, 20% das biópsias não foram satisfatórias e 80% satisfatórias para análise em ambos os grupos.

Entre as usuárias do implante-ENG, os níveis de soro de CA 125, CD23 solúvel e a densidade de fibras nervosas foram significativamente reduzidos. O CA 125 caiu de 45,4 ($\pm$ 63,8) U/ml para 26,7 ($\pm$ 41,6) U/ml da linha de base para 180 dias de avaliação ($P < .001$). Além disso, os níveis de soro de CD23 solúvel também caíram de 59,6 ($\pm$ 124,2) U/ml para 6,5 ($\pm$ 13,2) U/ml da linha de base para 180 dias de avaliação ($P < .001$). Também houve redução da densidade de fibras nervosas endometrial de 6,7 ($\pm$ 8,4) por mm² para 2,7 ($\pm$ 4,1) por mm² da linha de base para 180 dias de avaliação ($P < .001$).

Em relação aos usuários do SIU-LNG, houve redução significativa da densidade solúvel e de fibras nervosas do soro CD23. Entretanto, embora o CA 125 tenha caído, o valor não foi significativo, com uma linha de base de 25,5 ($\pm$ 31,1) U/ml para 22,7 ($\pm$ 30,4) U/ml aos 180 dias de avaliação ($P = 0,142$). A redução da densidade solúvel do CA 125, CD23 e de fibra nervosa em 180 dias após a colocação do dispositivo não se correlaciona com a redução da dor pélvica não cíclica de VAS e dos escores de dismenorréia.

Para a maioria das usuárias de implantes-ENG, os padrões de sangramento foram amenorréia (29%) e sangramento infrequente (24%) aos 180 dias de seguimento. Além disso, 53% de amenorreia e menos de 2 episódios de sangramento foram observados nos últimos 90 dias. Para as usuárias de SIU-LNG, o sangramento infrequente foi observado em 30,0% e a amenorréia em 7,5% aos 180 dias de seguimento. Observou-se que 37,5% de amenorréia e menos de 2 episódios de sangramento ocorreram nos últimos 90 dias neste grupo.

4. DISCUSSÃO

A endometriose é uma doença de difícil diagnóstico. Os sintomas de dismenorreia intensa, dor pélvica crônica e dispareunia geralmente estão associados à endometriose profunda, infiltrando mais de 5 mm o peritônio. A repetição da injúria tecidual provocada mensalmente pelo refluxo da menstruação para a pelve pode explicar o aumento da resposta inflamatória local, podendo também sugerir modificações epigenéticas, culminando no início da doença e sua progressão para invasão (Gordts et al., 2017).

Ainda se desconhece o mecanismo exato de ação do LNG e da ENG na endometriose. Podemos especular que o efeito poderia ser local ou sistêmico ou poderia modular o sistema endócrino e imunológico endometrial local, reduzindo a atividade estrogênica e o estímulo de regulação de neurotrofinas e outras moléculas associadas ao incremento das fibras nervosas endometriais, justificando a melhora da dor pélvica através da redução das fibras nervosas endometriais.

Os resultados deste estudo mostraram que ambos os métodos contraceptivos com apenas progestogenio derivados da 19 nortestosterona de longa ação foram bem-sucedidos em uma redução significativa na dor pélvica

crônica, dismenorréia, na redução dos níveis séricos dos biomarcadores CD-23, CA-125 e da densidade de fibras nervosas endometriais quando comparados os valores basais e aos 180 dias após a intervenção. Entretanto, não foi encontrada redução significativa dos níveis do CA 125 no grupo de SIU-LNG como mostrado em estudos anteriores (Petta *et al.*, 2005; de Sá Rosa e Silva *et al.*, 2006). Embora o CA 125 tenha baixa sensibilidade e especificidade, ele ainda é o marcador mais usado em endometriose (Mol *et al.*, 2011; May *et al.*, 2010; Hirsch *et al.*, 2016; Nisenblat *et al.*, 2016). No grupo de implante-ENG, foi observada redução nos níveis séricos do CA 125 após 180 dias da intervenção. Neste grupo, nós notamos que o percentual de pacientes com menos de 2 episódios de sangramento nos últimos 90 dias avaliados (amenorréia e sangramento infrequente) foi de 53%. Isto pode estar associado com a redução do sangramento uterino assim como do refluxo uterino e provavelmente do sangramento no foco endometriótico. No entanto, no grupo de SIU-LNG, em que não foi evidenciado redução significativa dos níveis de CA-125, apenas 37,5% das participantes apresentaram amenorréia ou sangramento irregular nos últimos 90 dias observados.

Além disso, observamos que houve queda significativamente dos níveis de CD-23 solúvel na avaliação de 180 dias após a intervenção, em ambos os braços do estudo, sugerindo que a função ovariana pode ter influência na resposta imune, na modulação da ativação de células β , como sugerido anteriormente (Belsey *et al.*, 1986; Odukoya *et al.*, 1996; Ramos *et al.*, 2012).

Estudos prévios mostraram que mulheres com endometriose apresentam fatores neurotróficos que estimulam o aumento da atividade dos nervos e incrementam a percepção da dor (Al-Jefout *et al.*, 2009). O endométrio eutópico de mulheres com endometriose pode mostrar diferentes estruturas, diferentes expressões moleculares, apoptose, componentes imunológicos, moléculas de adesão celular, proteases e fibras nervosas quando comparados a mulheres sem endometriose (Al-Jefout *et al.*, 2009; Zevallos *et al.*, 2015; Ahn *et al.*, 2017). Observamos que houve redução significativa da densidade de fibras nervosas no endométrio aos 180 dias após a inserção dos dispositivos com progestogenios, sugerindo, como estudos anteriores (Tokushige *et al.*, 2009; Newman *et al.*, 2013; Tarjanne *et al.*, 2015) uma ferramenta diagnóstica indireta ou um marcador substituto menos invasivo, porém não houve correlação direta, com significado estatístico, com a redução dos níveis de dor e dismenorréia pela EVA. Uma das limitações do nosso estudo foi que, além da endometriose, miomas e adenomiose poderiam aumentar a imuno-reatividade das fibras nervosas endometriais coradas pelo PGP9.5, não sendo específico, porém estariam associados à dor (Ellett *et al.*, 2015).

Embora ambos os contraceptivos testados em nosso estudo tenham melhorado os escores de dor pélvica crônica e dismenorreia, não houve correlação significativa em relação à redução de biomarcadores séricos

e endometriais nos dois grupos. Estes achados sustentam as diretrizes mais recentes do ESHRE que sugerem não há biomarcador ideal para endometriose (Dunseman *et al.*, 2014).

Embora pelas últimas diretrizes do ESHRE de 2015 (Dunselman *et al.*, 2014) não seja recomendado para diagnóstico a solicitação de qualquer biomarcador, seja sérico ou urinário ou até mesmo histológico eles são muito estudados para sugerir métodos não invasivos para diagnóstico da doença, tendo em vista casos assintomáticos, suspeita de endometriose na adolescente, suspeita de endometriose em infertilidade sem a ocorrência de dor (Gupta *et al.*, 2016; Nisenblat *et al.*, 2016; Ahn *et al.*, 2017). Tendo em vista isto, há uma instituição global para pesquisa em endometriose, a World Endometriosis Research Foundation (WERF), que trabalha com 75 instituições em 30 países. Eles desenvolveram um biobanco (Endometriose Phenome and Biobanking Harmonisation Project-EPHect) com amostras séricas, teciduais, urinárias, com padronização e harmonização de dados fenotípicos cirúrgicos, clínicos além de padronizar métodos biológicos de coleta de amostras em pesquisas sobre endometriose (<https://endometriosisfoundation.org/>)

Não podemos negar que o diagnóstico *gold standart* ainda é a cirurgia. Há uma revisão sistemática de 2004, que determina a acurácia do diagnóstico da endometriose por laparoscopia em que a sensibilidade foi 94% e a especificidade 79% (Nisenblat *et al.*, 2016). No entanto, há de se pontuar os riscos inerentes ao procedimento cirúrgico (Nisenblat *et al.*, 2016). Tais riscos incluem, dentre outros, lesão de órgãos, hemorragia, infecção e formação de aderência, além de complicações anestésicas gerais. Além isto, ponderar custos financeiros ao paciente e ao sistema de saúde, tempo necessário para ficar afastado das atividades laborais e familiares. O ideal seria um teste não invasivo com alta sensibilidade e especificidade, ou seja, um teste com probabilidade de ser positivo quando a mulher apresenta a endometriose e ser negativo quando a mulher não apresenta a doença. Mas este teste não existe até o momento, muito menos uma associação de testes.

Tentamos seguir ao máximo o protocolo proposto, as pacientes tiveram boa receptividade aos métodos propostos, das 51 pacientes do braço do SIU-LNG, 6 perderam seguimento e 6 descontinuaram, sendo 3 expulsos e 3 removidos. Já no braço do implante-ENG, das 52 mulheres, 5 perderam seguimento e 4 descontinuaram. Em nosso estudo, o seguimento se deu por 6 meses. Há necessidade de estudos, com seguimento por um tempo maior, pelo menos 24 a 36 meses, avaliando dor associado a concentração sérica de LNG e ENG.

5. CONCLUSÃO

Os valores dos níveis séricos de CA-125 basal foram semelhantes em ambos os grupos de tratamento e foram significativamente menores aos 180 dias entre as usuárias do implante-ENG.

Os valores dos níveis séricos de CD 23 basal foram semelhantes em ambos os grupos de tratamento e foram significativamente menores aos 180 dias entre as usuárias do implante-ENG e do SIU-LNG.

Os valores da densidade de fibras nervosas no endométrio basal foram semelhantes em ambos os grupos de tratamento e foram significativamente menores aos 180 dias entre as usuárias do implante-ENG e do SIU-LNG.

Não houve correlação significativa, entre a redução dos escores de dor pélvica e dismenorreia com a redução dos biomarcadores em ambos os grupos ao longo do tempo observado.

6. AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos funcionários do CEMICAMP, em especial à Adriana e à Lusía, às enfermeiras Ximena, Sarah, Nadia, Elaine e Paula, aos docentes da Tocoginecologia que nos ajudaram na seleção de pacientes (Prof Dra Ilza, Prof Dra Arlete, Prof Dra Cristina e Prof Dra Daniela), à Dra Larissa Eloi da Patologia da UNICAMP.

À FAPESP pelo apoio financeiro #2015/20504-9 e CNPq # 573747/2008-3

À Merck pelo apoio financeiro projeto # 37228.

Ao International Contraceptive Access Foundation, Turku, Finlândia, pela doação dos Sistemas Intrauterinos liberadores de Levonorgestrel.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN S.H., SINGH V., TAYADE C. (2017) **Biomarkers in endometriosis: challenges and opportunities.** Fertil Steril. 2017;107:523–32.

AL-JEFOUT M, DEZARNAULDS G, COOPER M, TOKUSHIGE N, LUSCOMBE GM, MARKHAM R, *et al.* (2009) **Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: A double blind study.** Hum Reprod. 24(12):3019-3024.

BAHAMONDES L, BAHAMONDES MV, SHULMAN LP. (2015) **Non-contraceptive benefits of hormonal and intrauterine reversible contraceptive methods.** Hum Reprod Update. 21(5):640–51.

BEASLEY A. (2013) **Contraceptive Procedures Intrauterine device Contraceptive implant Levonorgestrel Etonogestrel.** 40: 697-729.

BEDAIWY MA, ALFARAJ S, YONG P, CASPER R. (2017) **New developments in the medical treatment of endometriosis.** Fertil Steril. 107:555-565.

BELSEY EM, MACCHIN D, D'ARCANGUES C. (1986) **The analysis of vaginal bleeding patterns induced by fertility regulating methods.** World Health Organization Special Programme of Research, Development and Research Training

in Human Reproduction. Contraception. 34(3):253-60.

BROWN J, FARQUHAR C. (2015) **An Overview of Treatments for Endometriosis.** JAMA. 303:296-297.

BURNEY RO, GIUDICE LC. (2012) **Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis.** Fertil Steril 98(3): 511–9.

CASPER RF. (2017) **Progestin-only pills may be a better first-line treatment for endometriosis than combined estrogen-progestin contraceptive pills.** Fertil Steril. 107(3):533-536

CHAMIÉ, L P; BLASBALG, R; GONÇALVES, M O C; CARVALHO, F M; ABRÃO, M S; OLIVEIRA IS. (2009) **Accuracy of magnetic resonance imaging for diagnosis and preoperative assessment of deeply infiltrating endometriosis.** Int J Gynecol Obstet. 106(3):198–201.

CURTIS, K M; PEIPERT JF.(2017) **Long-Acting Reversible Contraception.** New Engl Jounal Med. 376:461–8.

DE SÁ ROSAE SILVAACJ, ROSAE SILVAJC, NOGUEIRAAA, PETTACA, ABRÃO MS, FERRIANI RA.(2006) **The levonorgestrel-releasing intrauterine device reduces CA-125 serum levels in patients with endometriosis.** Fertil Steril. 86(3):742-744.

DUNSELMAN GAJ, VERMEULEN N, BECKER C, CALHAZ-JORGE C, D'HOOGHE T, DE BIE B, *et al.* (2014) **ESHRE guideline: management of women with endometriosis.** Human Reproduction. 29: 400-412.

ELLETT L, READMAN E, NEWMAN M, MCILWAINE K, VILLEGAS R, JAGASIA N, *et al.* (2015)**Are endometrial nerve fibres unique to endometriosis? A prospective case-control study of endometrial biopsy as a diagnostic test for endometriosis in women with pelvic pain.** Human Reproduction. X 30(12): 2808-2815.

FASSBENDER A, BURNEY RO, O DF, D'HOOGHE T, GIUDICE L.(2015) **Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis.** BioMed Research International. 1-14.

FEDELE L, BIANCHI S, ZANCONATO G, PORTUESE A, RAFFAELLI R. (2001) **Use of a levonorgestrel-releasing intrauterine device in the treatment of rectovaginal endometriosis.** Fertil Steril. 75(3):485-488.

FILLINGIM RB, NESS TJ. (2000) **Sex-related hormonal influences on pain and analgesic responses.** Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 24:485-501

FRASER IS. (2013) **Added health benefits of the levonorgestrel contraceptive intrauterine system and other hormonal contraceptive delivery systems.** Contraception. 87:273-279.

GERLINGER C, SCHUMACHER U, FAUSTMANN T, COLLIGS A, SCHMITZ H, SEITZ

C. (2010) **Defining a minimal clinically important difference for endometriosis-associated pelvic pain measured on a visual analog scale: Analyses of two placebo-controlled, randomized trials.** *Health Qual Life Outcomes.* 8(138):1-7.

GORDTSS, KONINCKXP, BROSENSI. (2017) **Pathogenesis of deep endometriosis.** *Fertil Sterility.* 108(6):872-885.

GUPTA D, HULL ML, FRASER I, MILLER L, BOSSUYT PMM, JOHNSON N, *et al.* (2016) **Endometrial biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis.** *Cochrane Database of Systematic Reviews.* CD012165.

HAAS D, SHEBL O, SHAMIYEH A, OPPELT P. (2013) **The rASRM score and the Enzian classification for endometriosis: Their strengths and weaknesses.** *Acta Obstet Gynecol Scand* 92:3-7.

HIRSCH M, DUFFY J, DAVIS C, PLANA MN, KHAN K. (2016) **Diagnostic accuracy of cancer antigen 125 for endometriosis: a systematic review and meta-analysis.** *BJOG.* 123:1761-1768.

<https://www.universomedico.com.br/produtos/bula/mirena-levonorgestrel.aspx>. Acesso em 27 de setembro de 2021.

https://saude.msd.com.br/products/implanon_nxt/index.xhtml. Acesso em 27 de setembro de 2021.

<https://endometriosisfoundation.org/>. Acesso em 27 de setembro de 2021.

JOHNSON NP, HUMMELSHOJ L, ADAMSON GD, KECKSTEIN J, TAYLOR HS, ABRAO MS, *et al.* (2016) **World endometriosis society consensus on the classification of endometriosis.** *Hum Reprod.* 1-10.

LOCKHAT FB, EMBOLU JO, KONJE JC.92004) **The evaluation of the effectiveness of an intrauterine-administered progestogen (levonogestrel) in the symptomatic treatment of endometriosis and in the staging of the disease.** *Hum Reprod.* 19(1):179-184.

MÁXIMO MM, SILVAPS, VIEIRACS, GONÇALVEZ TM, ROSA-E-SILVA JC, CANDIDO-DOS-REIS FJ, *et al.* (2015) **Low-dose progestin-releasing contraceptives are associated with a higher pain threshold in healthy women.** *Fertil Steril.* 104(5):1182-1189.

MAY KE, CONDUIT-HULBERT SA, VILLAR J, KIRTLEY S, KENNEDY SH, BECKER CM. (2010) **Peripheral biomarkers of endometriosis: A systematic review.** *Hum Reprod Update.* 16(6):651-674.

MATALLIOTAKIS IM, NEONAKI MA, KOUMANTAKI YG, GOUMENOUAG, KYRIAKOU DS, KOUMANTAKIS EE. (2000) **A randomized comparison of danazol and leuprolide acetate suppression of serum-soluble CD23 levels in endometriosis.** *Obstet Gynecol.* 95(6):810-813.

MOL BWJ, BAYRAM N, LIJMER JG, WIEGERINCK MAHM, BONGERS MY, VAN DER VEEN F, *et al.* (1998) **The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: A meta-analysis.** *Fertil Steril.* 70(6):1101-1108.

NAP AW. (2012) **Theories on the Pathogenesis of Endometriosis.** *Endometr Sci Pract.* 11:42–53.

NEWMAN TA, BAILEY JL, STOCKER LJ, WOO YL, MACKLON NS, CHEONG YC (2013) . **Expression of neuronal markers in the endometrium of women with and those without endometriosis.** *Human Reproduction.* 28(9): 2502-2510.

NEZHAT C, NEZHAT F, NEZHAT C.(2012) **Endometriosis: Ancient disease, ancient treatments.** *Fertil Steril* 98(6):S1–62.

NISENBLAT V, BOSSUYT PMM, FARQUHAR C, JOHNSON N, HULL ML.(2016) **Imaging modalities for the non-invasive diagnosis of endometriosis.** *Cochrane Database of Systematic Reviews.* CD009591.

NISENBLAT V, PRENTICE L, BOSSUYT PMM, FARQUHAR C, HULL ML, JOHNSON N. (2016) **Combination of the non-invasive tests for the diagnosis of endometriosis.** *Cochrane Database of Systematic Reviews.* CD012281.

NISOLLE M, DONNEZ J. (1997) **Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities.** *Fertil Steril.* 1997;68(4):585-596.

ODUKOYA O, BANSALA, COOKE I. (1996) **Serum endometrial IgG antibodies and soluble CD23 concentrations in patients with endometriosis.** *Acta Obstet Gynecol Scand.* 75: 927-931.

ODUKOYA O-A, BANSAL A, WILSON P, KXIM, WEETMAN AP, COOKE ID. (1996) **Soluble CD23 protein in the peritoneal fluid of patients with endometriosis.** *Hum Reprod.* 11(9):2018–21.

PETTA CA, FERRIANI RA, ABRAO MS, HASSAN D, ROSA E SILVA JC, PODGAEC S, *ET AL.*(2005) **Randomized clinical trial of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and a depot GnRH analogue for the treatment of chronic pelvic pain in women with endometriosis.** *Hum Reprod.* 20(7):1993-1998.

PONPUCKDEE, J; TANEAPANICHSKUL S. (2005) *J Med Assoc Thai* 88(Suppl 2):S7-10. **Practice T, Medicine R. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis: A committee opinion ASRM.** (2014) *Fertil Steril.* 101(4):927–35.

RAMOS LIM DE, PODGAEC S, ABRÃO MS, OLIVEIRA R DE, BARACAT EC. (2012) **Evaluation of CA-125 and soluble CD-23 in patients with pelvic endometriosis: a case-control study.** *Rev Assoc Med Bras* 58(1):26–32.

Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: (1996). *Fertil Steril* 1997;67:817-21.

ROSA E SILVA ACJS, ROSA E SILVA JC, FERRIANI RA. (2007) **Serum CA-125 in the diagnosis of endometriosis**. Int J Gynecol Obstet. 96(3):206-207.

SCHINDLER AE, CAMPAGNOLI C, DRUCKMANN R, HUBER J, PASQUALINI JR, SCHWEPPE KW, *et al.* (2003) **Classification and pharmacology of progestins**. Maturitas. 46(S1):S7-S16.

SINGH SS, SUEN MWH. (2017) **Surgery for endometriosis: beyond medical therapies**. Fertil Steril. 103(3):549-554.

SUBRAMANIAN A, AGARWAL N. (2010) **Endometriosis - Morphology, clinical presentations and molecular pathology**. J Lab Physicians. 2:1-9.

TARJANNE S, NG CHM, MANCONI F, AROLA J, MENTULA M, MANECK B, *et al.* (2015) **Use of hormonal therapy is associated with reduced nerve fiber density in deep infiltrating, rectovaginal endometriosis**. Acta Obstet Gynecol Scand. 94: 693-700.

TOKUSHIGE N, MARKHAM R, RUSSELL P, FRASER IS. (2006) **High density of small nerve fibres in the functional layer of the endometrium in women with endometriosis**. Hum Reprod. 21(3):782-787.

TOKUSHIGE N, MARKHAM R, RUSSELL P, FRASER IS. (2007) **Different types of small nerve fibers in eutopic endometrium and myometrium in women with endometriosis**. Fertil Steril. 88(4):795-803.

TOKUSHIGE N, MARKHAM R, RUSSELL P, FRASER IS. (2009) **Effect of progestogens and combined oral contraceptives on nerve fibers in peritoneal endometriosis**. Fertil Steril. 92(4):1234-1239.

VERCELLINI P, AIMI G, PANAZZA S, DE GIORGI O, PESOLE A, CROSIGNANI PG. (1999) **A levonorgestrel-releasing intrauterine system for the treatment of dysmenorrhea associated with endometriosis: A pilot study**. Fertil Steril. 72(3):505-508.

VERCELLINI P, FRONTINO G, DE GIORGI O, AIMI G, ZAINA B, CROSIGNANI PG. (2003) **Comparison of a levonorgestrel-releasing intrauterine device versus expectant management after conservative surgery for symptomatic endometriosis: a pilot study**. Fertil Steril. 80(2):305-309.

VERCELLINI, PAOLO; VIGANÒ, PAOLA; SOMIGLIANA, EDGARDO; FEDELE L. (2014) **Endometriosis: pathogenesis and treatment**. Nat Rev Endocrinol. 10:261-75.

VERCELLINI P, BUGGIO L, SOMIGLIANA E. (2017) **Role of medical therapy in the management of deep rectovaginal endometriosis**. Fertil Steril 108(6):913-30.

WALCH K, UNFRIED G, HUBER J, KURZ C, VAN TROTSBURG M, PERNICKA E, *et al.* (2009) **Implanon® versus medroxyprogesterone acetate: effects on pain**

scores in patients with symptomatic endometriosis - a pilot study. Contraception. 79:29-34.

WHO. Medical Eligibility criteria for Contraceptive Use. (2015)1–276. Available from: [www.who.int/reproductive health](http://www.who.int/reproductive-health)

YISA SB, OKENWAAA, HUSEMEYER RP.(2005) **Treatment of pelvic endometriosis with etonogestrel subdermal implant (Implanon®).** J Fam Plan Reprod Heal Care. 31(1):67–70.

YUCEL N, BASKENT E, KARAMUSTAFAOGLU BALCI B, GOYNUMER G.(2018) **The levonorgestrel-releasing intrauterine system is associated with a reduction in dysmenorrhoea and dyspareunia, a decrease in CA 125 levels, and an increase in quality of life in women with suspected endometriosis.** Aust New Zeal J Obstet Gynaecol. 1-4.

ZEVALLOS HBV, MCKINNON B, TOKUSHIGE N, MUELLER MD, FRASER IS, (2015) BERSINGER NA. **Detection of the pan neuronal marker PGP9.5 by immunohistochemistry and quantitative PCR in eutopic endometrium from women with and without endometriosis.** Arch Gynecol Obstet. 291:85-91.

EVALUATION OF BIOMARKERS IN WOMEN WITH ENDOMETRIOSIS AND PAIN WHO USE ETONOGESTREL IMPLANTS OR INTRAUTERINE SYSTEMS WITH LEVONORGESTREL: A RANDOMIZED CLINICAL STUDY

ABSTRACT - Endometriosis is a chronic, benign, inflammatory. The goal of treatment is to reduce inflammation. The aim of this study was to evaluate the scores of chronic pelvic pain, dysmenorrhea, serum levels of CA125 and CD 23 soluble and nerve fibers density in women with endometriosis associated pelvic pain before and after 6 months of the use of the levonorgestrel-intrauterine system or etonogestrel (ENG) implant. An open, randomized clinical trial conducted at the Department of Obstetrics and Gynecology of UNICAMP, from 2016 to 2017. A total of 103 women with endometriosis associated pelvic pain were allocated to use an ENG-implant or a LNG-IUS. Fifty-two women were allocated to the ENG-implant and 51 for the use of LNG-IUS. Serum levels of CA-125, CD23 soluble and endometrial nerve fiber density were assessed before and after 6 months of use of the devices and were correlated to VAS pain and dysmenorrhea scores. Both contraceptives reduced the concentrations of serum CD-23 soluble levels and endometrial nerve fiber density ($p < 0.001$); however, the CA-125 only showed a significant reduction among users of the ENG-implant ($p < 0.05$). No correlation was observed between pain and dysmenorrhea scores decrease and biomarkers decrease. ENG-implant and the 52-mg LNG-IUS reduced significantly the serum CD 23 soluble levels and endometrial nerve fiber density; however, CA-125 was only reduced among users of the ENG-implant. The reduction of biomarkers was not correlated to improvement of VAS pain and dysmenorrhea scores. No differences were observed between the ENG-implant and the LNG-IUS.

KEYWORDS: Endometriosis; Pelvic pain; Dysmenorrhea; Levonorgestrel-releasing intrauterine system; Etonogestrel implant; CA-125; CD-23 soluble; Fiber nerve density.

AVALIAÇÃO DE CICATRIZES DE CIRURGIAS ESTÉTICAS DE MAMA E ABDOME APÓS APLICAÇÃO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS AUTÓLOGO

Jovino Gentilini Junior

lattes.cnpq.br/9324776278694059

Núcleo de Cirurgia Plástica Belo Horizonte – Minas Gerais

RESUMO: Introdução: Plasma Rico em Plaquetas (PRP) define-se como fração do plasma de sangue autólogo com uma concentração de plaquetas acima de 1000.000/ μ l. As plaquetas com os Fatores de Crescimento (FC) são importantes na cicatrização. Métodos: Selecionamos 48 pacientes, submetidos a abdominoplastia e mamoplastia, (idade entre 22 e 68 anos) em trabalho experimental, randomizado, prospectivo. O PRP foi aplicado na cicatriz comparando-o com o segmento cicatricial oposto sem PRP. Atribuiu-se um escore para a melhor cicatriz (de zero a três), correspondendo a: indiferente, levemente, moderadamente e acentuadamente melhor. Dois cirurgiões plásticos avaliaram as cicatrizes (Avaliador 1 e Avaliador 2), por fotografias feitas com quatro dias, um mês, três meses e 12 meses após a cirurgia. Resultados: Houve concordância quanto à melhor cicatriz, com aplicação de PRP, em 70%, aos quatro dias de pós-operatório repetida aos três meses.

As avaliações foram estatisticamente próximas da concordância além do acaso, com índice Kappa moderado (significativo, acima de 0,40). Não houve concordância no pós-operatório de um mês. No entanto, voltaram a apresentar concordância aos 12 meses, com índice kappa precário (abaixo de 0,20), não indo além do acaso. Quanto aos escores, manteve a tendência dos quatro dias iniciais, com avaliações moderadamente e acentuadamente melhores com PRP, porém sem significância estatística, com p igual a 0,82 para avaliador 1 e p igual a 0,070 para avaliador 2. Com um mês de pós-operatório sem significância. Aos três meses, as cicatrizes tratadas com PRP foram consideradas melhores. Aos 12 meses, o avaliador 1, classificou em torno de 40% das cicatrizes com PRP como acentuadamente melhores e 17,7% das cicatrizes sem PRP como acentuadamente melhores. Conclusão: O uso intradérmico do PRP, apresentou-se promissor, contribuindo beneficemente na evolução do processo cicatricial, com melhores resultados aos 4 dias e 90 dias de pós-operatório.

PALAVRAS-CHAVE: Sangue; Plaquetas; Plasma rico em plaquetas;

Cicatrização; Fator de crescimento derivado das plaquetas; Abdominoplastia; Mamoplastia; Cirurgia plástica.

1. INTRODUÇÃO

A alta incidência de feridas crônicas e as consequentes sequelas, têm um custo social relevante. A cada ano cerca de 100 milhões de pessoas adquirem cicatrizes, que podem ter repercussões físicas, estéticas, psicológicas e sociais, graves. Para a Cirurgia Plástica, em especial, os aspectos relativos às cicatrizes, são relevantes, para o sucesso ou fracasso de um procedimento cirúrgico com finalidade estética. Uma cicatriz disforme, hipertrófica, ou queloidiana pode ser causa de desconforto e insatisfação quanto ao resultado estético esperado. Entende-se como Plasma Rico em Plaquetas, concentrações de plaquetas superiores a 1000.000/ul, como preconizaram Marx^{1,2} em 1998 e Lemos et al.³ em 2002. Em 2008, Witlow et al.⁴, consideraram também com o PRP, as concentrações de plaquetas três a cinco vezes superiores àquelas encontradas no sangue. Da mesma forma os chamados Fatores de Crescimento, produzidos pelas plaquetas ativadas, se apresentam em níveis elevados após a centrifugação.

Os Fatores de Crescimento atuam em diversas fases do processo cicatricial (Quadro 1) Plasma rico em plaquetas, começou a ser utilizado no início da década de 70. Knighton et al.⁵ em 1986, utilizaram PRP em feridas crônicas, em pacientes diabéticos. Lynch et al.⁶ em 1987, do mesmo modo utilizaram o PRP, em diversas reparações teciduais. Marx et al.^{1,2} No Brasil, os trabalhos de Rossi et al.⁷ e Lemos et al.³ contribuíram para o emprego do PRP, na Odontologia. Na Cirurgia Plástica Estética, Man⁸ em 2001, Rumalla et al.⁹ em 2001¹⁰, Bhanot et al.¹¹ em 2002, Chajchir¹² em 2005, entre outros descreveram novas aplicações do PRP em áreas cruentas em 1988 publicaram o artigo que foi a principal base teórica para a utilização do PRP. Os trabalhos publicados por Marx^{1,2} em 2004, dando impulso às pesquisas de engenharia de tecidos e sobre a liberação dos fatores de crescimento plaquetários, presentes nos alfa-grânulos neoangiogênese, atividade mitogênica e quimiotóxica.

Quadro 1 - Principais Fatores de Crescimento liberados pelas plaquetas

PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas	Mitógeno, quimiotático, promove angiogênese, ativa o TGF
TGF	Fator de crescimento transformador	Formação da matriz endocelular, síntese de colágeno e elastina, proliferação e diferenciação celular
FGF	Fator de crescimento fibroblástico	Proliferação de fibroblastos, célula endotelial, angiogênese,
IGF	Fator de crescimento semelhante a insulina	Proliferação e diferenciação celular
EGF	Fator de crescimento epitelial	Mitógeno, promove a reepitelização e síntese do colágeno
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular	Angiogênese

PDGF- Fator de crescimento derivado das plaquetas. FGF- Fator de crescimento fibroblástico
IGF- Fator de crescimento semelhante a insulina. TGF- Fator de crescimento transformador.
EGF- Fator de crescimento epidérmico. VEGF- Fator de crescimento do endotélio vascular.

2. OBJETIVOS

Através de um estudo randomizado e controlado, verificar a segurança da aplicação intradérmica de PRP em feridas cirúrgicas de abdominoplastias e mamoplastias. Observar se haverá ocorrência de efeitos colaterais locais e sistêmicos. Avaliar sua eficácia em promover uma cicatrização de melhor qualidade, aos quatro dias, um mês, três meses, e 12 meses, de pós-operatório.

3. MÉTODOS

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética em Pesquisa da UFMG-COEP, em 12 de agosto de 2013. Os pacientes foram informados quanto aos aspectos éticos e receberam esclarecimentos quanto à pesquisa, participando de forma espontânea, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.1 População e amostra

Participaram da pesquisa 48 pacientes, sendo 46 do gênero feminino e 2 do gênero masculino, com idades variando de 22 a 68 anos, média de 35 anos. Os critérios de inclusão para este estudo foram mulheres e homens que se submeteram a mamoplastias e abdominoplastias respectivamente.

3.2 Local do estudo

Esta pesquisa foi realizada em clínica privada de cirurgia plástica, STK Núcleo de Cirurgia Plástica, em BH.

3.3 Coleta do Sangue e Preparo do Plasma Rico em Plaquetas

O método utilizado para o preparo do PRP foi aquele descrito por Vendramin et al.¹¹ em 2009. Com o paciente no bloco cirúrgico, realizou-se a punção de uma veia periférica com cateter calibre 22G (Descarpac®) e coletou-se 40ml de sangue total em duas seringas de 20ml, com agulha 25 x 7 mm (BD Plastipack®). O sangue foi transferido para tubos a vácuo de 4,5 ml (Vacuontainer®) contendo citrato de sódio a 3,2%. Em seguida, foi realizada uma primeira centrifugação do sangue a 400g (gravidade), equivalente a 1300 rpm (rotações por minuto), durante 10 minutos. (Centrífuga de 8x15 ml, modelo Centribio 80 2B). O plasma foi coletado até o limite da zona de névoa e transferido para um tubo seco.

Realizou-se uma segunda centrifugação a 800g (2600 rpm) por 10 minutos. Em seguida de cada tubo foi retirado e descartado 50% do plasma sobrenadante, correspondente ao Plasma Pobre em Plaquetas. O plasma restante e o sedimento (pellet) depositado no fundo do tubo constituiu o Plasma Rico em Plaquetas

Cinco minutos antes da injeção do volume obtido na ferida cirúrgica, para desencadear a agregação plaquetária, o PRP foi ativado com gluconato de cálcio a 10% (Gluconato de Cálcio 10%®) na proporção de 1:10. Em seguida, imediatamente após o término da síntese cirúrgica, para cada 1 cm da cicatriz, previamente marcada com azul de metileno, foi injetado 0,5 ml de PRP na margem superior e inferior da cicatriz. Para aplicação do PRP, utilizou-se uma seringa de 1 ml (BD ultrafine-fine™) acoplada a uma agulha de 12,7 mm). No segmento oposto, homolateral, nada foi injetado. A escolha do lado a ser aplicado foi feita de modo aleatório.

3.4 Aplicação do PRP

Nas abdominoplastias, foi aplicado em um dos segmentos da cicatriz supra-púbica horizontal, previamente demarcada. Aplicou-se cerca de 0,5 ml de PRP, por cm de cicatriz, em ambas as bordas, do segmento escolhido, num total de 6 ml de PRP. Nas mamoplastias, a aplicação foi feita na cicatriz vertical, com cerca de 0,5 ml de PRP, num total de 6 ml, no segmento vertical de uma das mamas;

3.5 Avaliação das cicatrizes

A máquina fotográfica utilizada para fotografar as cicatrizes foi da marca Canon, EOS Rebel T21, 18 megapixels. As cicatrizes foram avaliadas por 2 cirurgiões plásticos, (aqui denominados avaliador 1 e avaliador 2), com 4 dias, 1 mês, 3 meses, 12 meses de pós-operatório.

Nas abdominoplastias, foi solicitado aos cirurgiões plásticos avaliadores que comparassem ambos os segmentos cicatriciais direito e esquerdo do abdômen, previamente demarcado no pré-operatório.

Quanto às mamoplastias, comparou-se o segmento cicatricial vertical de uma mama com o da mama oposta. Os avaliadores elegeram a cicatriz que tinha o melhor aspecto, baseando-se nos seguintes critérios: pigmentação, espessura, cooptação das bordas, reação inflamatória, presença de equimoses e hematomas superficiais. O avaliador teve também a opção de considerar as duas cicatrizes como iguais (indiferente).

3.6 Análise estatística

A análise estatística envolveu a verificação da validade da aplicação de Plasma Rico em Plaquetas, frente à avaliação de dois cirurgiões plásticos. Para avaliar a concordância entre o lado de aplicação do PRP e cada avaliador em cada um dos tempos de avaliação das cicatrizes 4 dias, 1 mês, 3 meses, 1 ano (Quadro 2), Concordância percentual entre avaliador e o lado da cicatriz em que o PRP foi aplicado, utilizou-se a Estatística Kappa que avalia se houve concordância além do acaso, ou seja, se a concordância calculada no item a está além da aleatoriedade. A Tabela 1 mostra o total de cicatrizes avaliadas, com ou sem a aplicação de PRP, e o percentual de concordância, discordância e de indiferentes segundo dois avaliadores, em 4 momentos diferentes. A Tabela 2 mostra a concordância percentual geral e valores de Kappa. A estatística Kappa foi significativamente além do acaso, sendo classificadas como moderadas aos quatro dias. Após três meses a concordância entre o avaliador e o lado de aplicação foi próxima a 70% (66,7%) para o avaliador 1 e o Kappa (0,34) foi considerado razoável e estatisticamente muito próximo da concordância além do acaso ($p=0,052$). Aos 12 meses, as concordâncias não foram além do acaso. A Tabela 3 mostra a avaliação dos escores (levemente, moderadamente e acentuadamente melhor), segundo a escolha da melhor cicatriz por cada avaliador, decorridos quatro dias da intervenção. A Tabela 4 mostra a avaliação dos escores (levemente, moderadamente e acentuadamente melhor), segundo a escolha da melhor cicatriz por cada avaliador, decorrido 1 mês da intervenção. A Tabela 5 mostra a avaliação dos escores (levemente, moderadamente e acentuadamente melhor), segundo a escolha da melhor cicatriz por cada avaliador, decorridos três meses da intervenção. A Tabela 6 mostra a avaliação dos escores (levemente, moderadamente e acentuadamente melhor), segundo a escolha da melhor cicatriz por cada avaliador, decorridos 12 meses da intervenção.

Valor de **p** associado a cada estatística Kappa obtida. Níveis de Kappa: precários (iguais ou inferiores a 0,20), razoáveis (entre 0,20 e 0,40), moderados (de 0,40 a 0,60), substanciais (de 0,60 a 0,80), bons (acima de 0,80).

É importante observar que a estatística Kappa usualmente é calculada para concordância entre avaliadores. Ou seja, não é comumente utilizada para comparar um padrão-ouro (o lado em que o PRP foi aplicado, que é sabidamente conhecido) e o avaliador (aquele que não sabe onde foi aplicado). Contudo, ela foi utilizada nessa pesquisa e não há restrições

quanto a isso, já que o motivo da avaliação é constatar se a concordância obtida no item **a** está ocorrendo além do acaso. Além disso, o item **c** propõe o cálculo do valor de **p** associado à avaliação desta concordância além do acaso.

Finalmente, cabe observar que a estatística Kappa foi calculada apenas quando o avaliador se manifestou sobre qual o lado a cicatriz estava melhor. Quando o avaliador se revelou indiferente (ou seja, não sabia qual a cicatriz estava melhor), essa situação foi excluída da análise; nos quatro momentos de observação, foram atribuídos escores pelos avaliadores. Para a melhor cicatriz atribuiu-se o escore **um** (levemente melhor), **dois** (moderadamente melhor) e **três** (acentuadamente melhor), independentemente se a cicatriz considerada melhor tivesse ou não sido contemplada com a aplicação de PRP. Para essa análise, foram excluídas situações nas quais o avaliador não tinha opinião sobre qual a melhor cicatriz entre as duas apresentadas, ou seja, escore zero (indiferente). Em seguida, a proporção dos escores nessas cicatrizes foi comparada, usando o teste exato de Fisher.

Para efeito de significância estatística, em todas as situações (levemente, moderadamente e acentuadamente) considerou-se o valor de **p** menor ou igual a 0,05. As situações de concordâncias e discordâncias atribuídas às comparações.

Quadro 2: Concordâncias, discordâncias e escores atribuídos às comparações, entre cicatrizes com PRP e sem PRP

Descrição de concordâncias, discordâncias e escores atribuídos às comparações		
Ações do avaliador frente às fotos apresentadas	Concordância / Discordância / escore atribuído	Comentários
Avaliador compara as fotos e diz que cicatriz com aplicação de PRP está melhor	Concordância	
Avaliador compara as fotos e diz que está indiferente à qual a cicatriz está melhor	Indiferente	Esse caso é excluído da análise de concordância.
Avaliador compara fotos e diz que cicatriz sem aplicação de PRP está melhor	Discordância	
Avaliador diz que cicatriz que está avaliando está levemente melhor em relação a outra	Escore levemente melhor	Se a cicatriz avaliada tiver recebido PRP, chamamos de PRP com escore levemente melhor; caso contrário chamamos de controle com escore levemente melhor.
Avaliador diz que cicatriz que está avaliando está moderadamente melhor em relação a outra	Escore moderadamente melhor	Se a cicatriz avaliada tiver recebido PRP, chamamos de PRP com escore moderadamente melhor; caso contrário chamamos de controle com escore moderadamente melhor.
Avaliador diz que cicatriz que está avaliando está acentuadamente melhor em relação a outra	Escore acentuadamente melhor	Se a cicatriz avaliada tiver recebido PRP, chamamos de PRP com escore acentuadamente melhor; caso contrário chamamos de controle com escore acentuadamente melhor.

4. RESULTADOS

Houve concordância, em torno de 70%, entre os avaliadores, quanto à melhor cicatriz, com aplicação de PRP, aos quatro dias de pós-operatório de abdominoplastias (**Figura 1**) e mamoplastias (**Figura 2**) e três meses (**Figura 3**) Não houve diferenças estatisticamente significativas com 30 dias e 90 dias. Foram estatisticamente não significativos quanto à gradação dos resultados, em todos os tempos, porém comprovou-se uma tendência à melhor cicatriz com escores levemente, e moderadamente melhores, naquelas em que foi aplicado o PRP. Com 12 meses de pós-operatório com e sem PRP, não apresentaram diferenças;

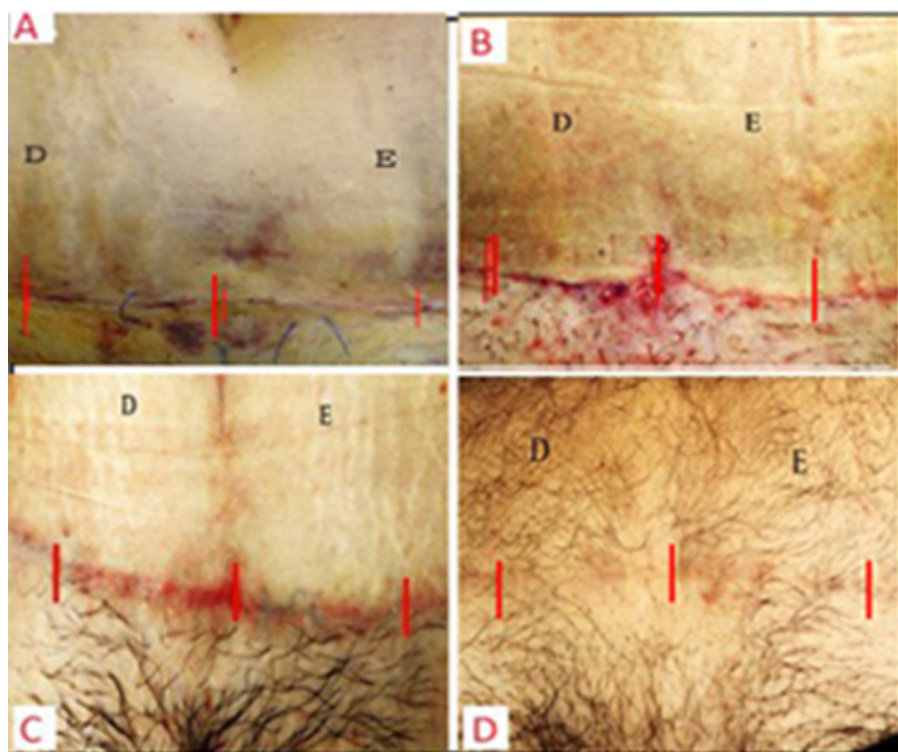


Figura 1 - Pós-operatório de abdominoplastias em diferentes pacientes, com quatro dias (A), um mês (B), três meses (C) e 12 meses (D). Segmentos cicatriciais direitos (D), em A, B, C, D SEM PRP. Segmentos cicatriciais esquerdos (E) em A, B, C, D COM PRP.

Fonte: laborada pelo autor

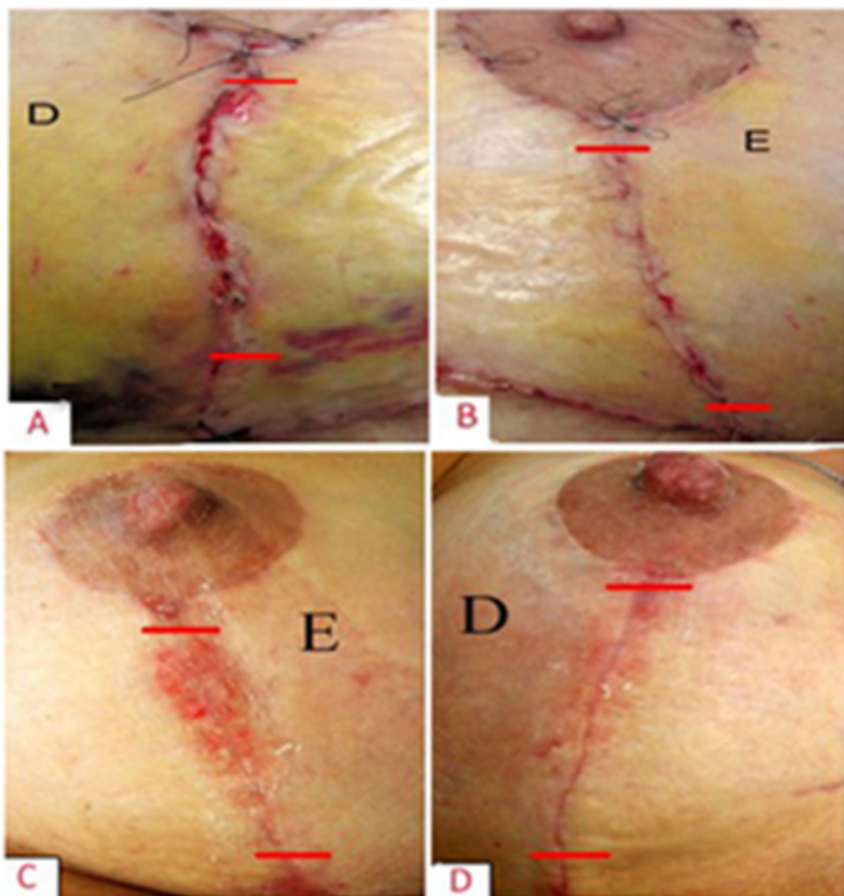


Figura 2 - Cicatrizes de mama de mesma paciente, com quatro dias de pós - operatório SEM PRP (A) e COM PRP (B). Cicatrizes de mama de mesma paciente, com um mês de pós-operatório SEM PRP (C) e COM PRP (D).

Fonte : Elaborada pelo autor.

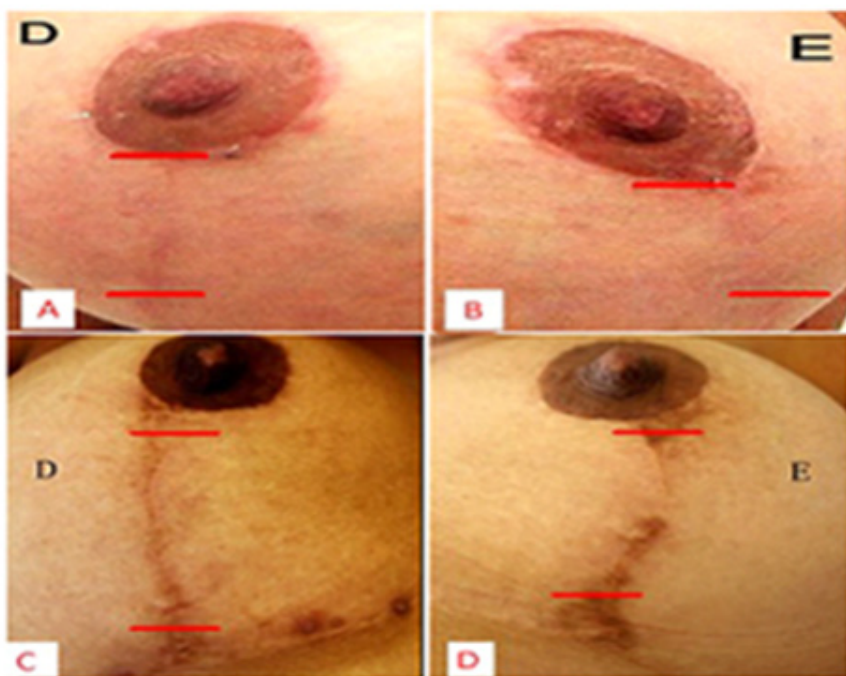


Figura 3 – Cicatrizes de mama (D) de mesma paciente com 3 meses de pós-operatório SEM PRP(A), mama esquerda (E) COM PRP(B). Cicatrizes com 12 meses de mama D, SEM PRP(C) e de mama E COM PRP (D)

Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 1 - Total e percentual de concordância, discordância e indiferentes pela avaliação, em 4 momentos diferentes, de cicatrizes com e sem a aplicação de PRP

Avaliadores	4 dias Total (%)	1 mês Total (%)	3 meses Total (%)	12 meses Total (%)
Avaliador 1				
Concordantes	34 (70,83)	16 (51,61)	14 (66,66)	10 (34,48)
Discordantes	14 (29,16)	15 (48,38)	7 (33,33)	17 (58,62)
Indiferentes	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	2 (6,89)
Total de cicatrizes	48 (100,00)	31 (100,00)	21 (100,00)	29 (100,00)
Avaliador 2				
Concordantes	26 (54,16)	17 (54,83)	11 (52,38)	10 (34,48)
Discordantes	10 (20,83)	6 (19,35)	3 (14,28)	11 (37,93)
Indiferentes	12 (25,00)	8 (25,80)	7 (33,33)	8 (27,58)
Total de cicatrizes	48 (100,0)	31 (100,0)	21 (100,0)	29 (100,0)

Tabela 2- Conncordância percentual geral e valores de kappa para avaliações em 4 momentos diferentes de cicatrizes que tiveram ou não aplicação de PRP

Tempo de observação	Conccordância %	Kappa (valor de p)
4 dias		
PRP e avaliador 1	70,8	1,42(0,002)
PRP e avaliador 2	70,3	0,41(0,006)
Avaliador 1 Avaliador 2	80,4	0,36(0,001)
1 mês		
PRP e avaliador 1	51,6	0,02(0,451)
PRP e avaliador 2	73,9	0,49 (0,006)
Avaliador 1 e Avaliador 2	45,2	0,087(0,232)
3 meses		
PRP e avaliador 1	66,7	0,34(0,052)
PRP e avaliador 2	78,6	0,57(0,009)
Avaliador 1 e Avaliador 2	52,4	0,29 (0,016)
12 meses		
PRP avaliador 1	37,0	-0,14(0,81)
PRP avaliador 2	47,6	0,18(0,551)
Avaliador 1 Avaliador	55,2	0,28(0,011)

Tabela 3 - Avaliação dos escores (levemente, moderadamente e acentuadamente melhor), segundo a escolha da melhor cicatriz por cada avaliador, após 4 dias da intervenção.

Escore atribuído aos 4 dias	Total*	Sem PRP	Com PRP	Valor de p
Avaliador 1				
Total	48 (100,0)	14 (100,0)	34(100,0)	0,842
Levemente Melhor	16 (33,3)	5 (35,7)	11(32,4)	
Moderadamente melhor	10 (20,8)	2 (14,3)	8 (23,5)	
Acentuadamente meior	22 (45,8)	7 (50,0)	15 (14,1)	
Avaliador 2				
Total	36 (100,0)	10 (100,0)	26 (100,0)	0,070
Levemente melhor	22 (62,1)	9 (90,0)	13 (50,0)	
Moderadamente nelhor	13 (36,1)	1 (10,0)	12 (46,1)	
Acentuadamente nelhor	1(2,8)	0 (0,0)	1 (3,9)	

Tabela 4 - Avaliação dos escores (levemente, moderadamente e acentuadamente melhor) para a melhor cicatriz, segundo a escolha de cada avaliador, após 1 mês da intervenção.

Escore atribuído após 1 mês	Total*	Sem PRP	Com PRP	Valor de p
Avaliador 1				
Total	31 (100,0)	15 (100,0)	16 (100,0)	0,451
Levemente Melhor	10 (32,3)	7 (46,7)	3 (18,8)	
Moderadamente Melhor	11 35,5)	5 (33,3)	6 (37,5)	
Acentuadamente Melhor	10 (32,3)	3 (20,0)	7 (43,7)	
Avaliador 2				
Total	23 (100,0)	6 (100,0)	17 (100,0)	0,731
Levemente Melhor	19 (82,6)	5 (83,3)	14 (82,3)	
Moderadamente Melhor	2 (8,7)	1 (16,7)	1 (5,9)	
Acentuadamenre Melhor	2 (8,7)	0 (0,0)	2 (11,8)	

Tabela 5 - Avaliação dos escores (levemente, moderadamente e acentuadamente melhor) para a melhor cicatriz, segundo a escolha de cada avaliador, **após 3 meses** da intervenção.

Escore atribuído aos 3 meses	Total*	Sem PRP	Com PRP	Valor de p
Avaliador 1				
Total	21 (100,0)	7 (100,0)	14 (100,0)	0,417
Levemente Melhor	10 (47,6)	4 (57,1)	6 (42,8)	
Moderadamente Melhor	7 (33,3)	3 (42,9)	4 (28,6)	
Acentuadamente Melhor	4 (19,1)	0 (0,0)	4 (28,6)	
Avaliador 2				
Total	14 (100,0)	3 (100,0)	11 (100,0)	0,999
Levemente Melhor	12 (85,7)	3 (100,0)	9 (81,8)	
Moderadamente Melhor	2 (14,3)	0 (0,0)	2 (11,8)	
Acentuadamente Melhor	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	

Tabela 6 - Avaliação dos escores (levemente, moderadamente e acentuadamente melhor) para a melhor cicatriz, segundo a escolha de cada avaliador, **após 12 meses** da intervenção.

Escore atribuído aos 12 meses	Total	Sem PRP	Com PRP	Valor de p
Avaliador 1				
Total	27 (100,0)	17 (100,0)	10 (100,0)	0,420
Levemente Melhor	11 (40,7)	7 (41,2)	4 (40,0)	
Moderadamente Melhor	9 (33,3)	7 (41,2)	2 (20,0)	
Acentuadamente Melhor	7 (25,9)	3 (17,7)	4 (40,0)	
Avaliador 2				
Total	21 (100,0)	11 (100,0)	10 (100,0)	0,999
Levemente Melhor	15 (71,4)	8 (72,7)	7 (70,0)	
Moderadamente Melhor	6 (28,6)	3 (27,3)	3 (30,0)	
Acentuadamente Melhor	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	

5. DISCUSSÃO

Uma grande quantidade de trabalhos tem sido publicada nessa área relatando uso do PRP em processos inflamatórios tendinosos, ligamentares e processos degenerativos osteomusculares^{30,33}. No entanto, ainda existem controvérsias quanto aos benefícios de seu emprego. Embora o PRP venha sendo utilizado em larga escala, principalmente na Medicina Esportiva, as bases científicas para sua aplicação ainda não foram totalmente elucidadas. Revendo a literatura, utilizando como base de pesquisa, Cochrane Library e PubMed, encontramos apenas doze protocolos de pesquisas randomizadas relacionadas ao uso do PRP em experiências clínicas controladas^{7,33,38}.

Shan et al.¹² Em 2013 e Saad et al.¹³ em 2011 mostraram resultados satisfatórios com a aplicação do PRP em úlceras de membros inferiores, em pacientes diabéticos, portadores de vasculopatia periférica grave. Ramos –Torrecillas J et al.¹⁴ em 2014, numa revisão da literatura, sobre a ação do PRP e fatores de crescimento, em odontologia, cirurgia plástica, ortopedia e dermatologia, encontraram diferentes resultados, os quais atribuíram à ausência de padronização nos protocolos. Alsousou J. et al.¹⁵ em 2013, com base em revisão da literatura, mostraram resultados encorajadores, como maior velocidade de recuperação e melhor cicatrização. Marques LF et al.¹⁶ em 2015, afirmaram que, apesar do grande potencial de aplicabilidade, a implementação terapêutica do PRP, torna-se difícil, devido à falta de pesquisas relacionadas à padronização das técnicas, e a insuficiente descrição dos procedimentos adotados. Recomendaram maior número de estudos para determinar a concentração apropriada de plaquetas para as diferentes condições clínicas. Prado R et al.¹⁷ em 2015, relataram diferentes protocolos para obtenção dos fatores de crescimento.

Obtivemos o PRP com protocolo descrito por Vendramin et al.^{11,18} em 2009. Esses autores analisaram sete formas de preparação do PRP, variando a força de centrifugação, em gravidade (g) e o tempo de centrifugação (T). O melhor protocolo obtido por esses autores foi adotado em nossa pesquisa que consistiu em dois tempos de centrifugação. A primeira centrifugação foi a 400 g (gravidade) equivalente a 1300 rpm (rotações por minuto) e a segunda a 800 g (gravidade) equivalente a 2600 rpm (rotações por minuto).

A pesquisa avaliou cicatrizes com 4 dias, 1, 3, e 12 meses após a aplicação do PRP. As diferenças mais evidentes favoráveis a aplicação foi com 4 dias de pós-operatório. Essa observação foi corroborada principalmente pelos resultados do avaliador 1, que escolheu como melhor cicatriz aquela na qual houve aplicação do PRP em 70% das vezes. O fato do avaliador 2 ter tido opinião coincidente em apenas 53,4% das vezes pode ser explicado pelo maior número de cicatrizes nomeadas por ele como iguais (indiferente).

Ambos apresentaram $P \leq 0,05$ e Índice Kappa moderado. Os resultados mostraram que a intensidade na gradação da qualidade das cicatrizes não foi predominantemente acentuada, porém os avaliadores foram capazes de discernir as diferenças entre as mesmas. Vale salientar

que, a diferença nas cicatrizes foi observada pelos próprios pacientes que, muitas vezes manifestaram sua opinião sobre o lado com melhor resultado estético, coincidindo com o lado em que o PRP foi aplicado.

Também aos 3 meses, a concordância entre avaliador **1** e o lado no qual o PRP foi aplicado foi próxima a 70% (66,7%) e o Kappa (0,34), considerado razoável e estatisticamente, muito próximo da concordância além do acaso ($p=0,05$). Quando se comparou os avaliadores, os índices Kappa foram classificados como razoáveis e as concordâncias, estatisticamente além do acaso, para todos os meses, exceto para o primeiro mês.

Aos 12 meses, as concordâncias não foram além do acaso. Nessa fase da cicatrização houve um equilíbrio na qualidade das cicatrizes, pois não foram observadas diferenças significativas entre os segmentos com e sem PRP, por ambos os avaliadores.

Para graduar a intensidade das diferenças entre as cicatrizes com e sem aplicação de PRP, optou-se pela atribuição de escores na avaliação da melhor cicatriz. Demonstrou-se que, apesar de uma proporção de cicatrizes com a aplicação de PRP ter sido apontada como melhor em relação às que não receberam PRP, a gradação na intensidade dessa diferença observada não foi estatisticamente significativa nos dois grupos de cicatrizes.

Aos 4 dias de avaliação, observou-se que o avaliador **1** nomeou maior porcentagem de cicatrizes **com** PRP como moderada ou acentuadamente melhor (23,5% e 44,1% respectivamente), totalizando 67,6%. Quanto às cicatrizes **sem** PRP encontrou-se 14,3% e 50,0%, respectivamente, totalizando 64,3% para o avaliador **1**. A mesma tendência foi encontrada para o avaliador **2** nessas cicatrizes, cujos percentuais foram 50,0% e 10,0% respectivamente. Ou seja, as cicatrizes com PRP, foram em maior medida avaliadas como moderada ou acentuadamente melhor aos 4 dias, comparadas àquelas sem PRP.

Na avaliação de um mês de pós-operatório, manteve-se a tendência observada aos 4 dias. A proporção de cicatrizes com PRP, tanto para o avaliador **1** quanto para o avaliador **2**, foram classificadas como moderadamente melhor ou acentuadamente melhor, comparativamente àquelas sem PRP.

Após 3 meses da intervenção, manteve-se a tendência observada anteriormente: escores com melhor avaliação entre aquelas cicatrizes com PRP. Os avaliadores **1** e **2** não nomearam quaisquer cicatrizes **com** PRP como acentuadamente melhor. O avaliador **2** não nomeou qualquer cicatriz **sem** PRP como moderadamente melhor, sendo este percentual diferente de zero entre cicatrizes com PRP (18,2%).

Constatou-se uma tendência dos avaliadores, a nomearem como melhores, as cicatrizes nas quais foi aplicado o PRP. Em dois tempos distintos (aos 4 dias e 3 meses), a qualidade da cicatriz com PRP foi significativamente melhor.

O uso intradérmico de PRP autólogo pré-operatório nas margens

cirúrgicas mostrou-se promissor e benéfico na evolução do processo cicatricial.

6. CONCLUSÃO

A aplicação do PRP em feridas cirúrgicas de abdominoplastias e mamoplastias demonstrou-se segura, sem efeitos colaterais de ordem sistêmica ou locais que pudessem comprometer prejudicar o paciente e o processo cicatricial.

A melhor eficácia com a aplicação do PRP foi observada aos quatro dias de avaliação, quando as melhores cicatrizes foram aquelas que tiveram a aplicação do PRP. Apesar de o PRP ter se mostrado mais eficaz na fase inicial de cicatrização, a sua ação foi indiferente nos períodos tardios da cicatrização. Aos doze meses de avaliação, houve uma homogeneização na qualidade das cicatrizes, não sendo possível observar-se diferenças macroscópicas significativas entre os lados com e sem aplicação de PRP.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas cicatrizes quanto à gradação levemente, moderadamente e acentuadamente melhores nos grupos com e sem aplicação do PRP, em nenhum tempo da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225-8.
2. Marx RE *et al.* Platelet-rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol, Oral Radiol. Endod.* 1998 Jun; 85(6): 638-46.
3. Lemos J. J, Rossi R. Jr, Vila N. Análise do potencial osteogênico do Plasma Rico em Plaquetas no reparo de cavidades ósseas - Estudo histológico em cães –Dissertação de Mestrado em Implantodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro. Nov 2002.
4. Whitlow J *et al.* The acceptance and use of autologous platelet gel. *Perfusion*, v.23, p. 283-289, 2008.
5. Knighton DR. The use of platelet derived wound healing formula in human clinical trials. *Prog Clin Biol Res.* 1988; 266:319-29.
6. Lynch- Introduction. *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery*
7. De Rossi R *et al.* Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cir Bras.* 2009; 24:276-81.
8. Man D, Plosker H, Winland Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma

(platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001; 107 (1):229-37

9. Rumalla VK, Borah GL. Cytokines, growth factors, and plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2001; 108:719-33.

10. Bhanot S, Alex JC. *Facial Plastic Surgery* v.18 n1 p27-33, 2002.

11. Vendramin FS et al. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento, técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. *Rev. Col. Bras. Cir.*2006, 33(1):24-8.

12. Shan GQ et al. Evaluation of the effects of homologous platelet gel on healing lower extremity wounds in patients with diabetes. *Int J. Low Extrem Wounds*. 2013 Mar; 12(1):22-9.

13. Saad S Et al. Platelet-rich plasma versus platelet-poor plasma in the management of chronic diabetic foot ulcers: a comparative study. *Int Wound J* 2011 Jun; 8(3):307e12.

14. Ramos-torresilha. *WOUNDS* 2014;26 (7):207-213 Clinical Utility of Growth Factors and Platelet-Rich Plasma in Tissue Regeneration: A Review.

15. Alsousou J, Ali A, Willet K, Harrison P, The role of platelet –rich plasma in tissue regeneration. *Platelets*.2013; 24: 173-82

16. Marques LF et al. Platelet –rich plasma (PRP}): methodological aspects and clinic applications. *Platelets*. 2015; 26(2):101-13.

17. Prado R, Padilla S, Orive G. Plasma rich in growth factors (PRGF) technology: simple facts that turn on the lights. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015 Sep; 19(18):3329.

18. Vendramin FS, Franco D. & Franco TR. 2009. Método de obtenção do gel de plasma rico em plaquetas autólogo. *Revta Bras. Cir. Plást.* 24(2):212- 218.

EVALUATION OF SCARS OF AESTHETIC BREAST AND ABDOMEN SURGERIES AFTER APPLICATION OF RICH PLASMA IN AUTOLOGOUS PLATELETS

ABSTRACT - Introduction: Platelet Rich Plasma (PRP) is defined as a volume fraction of autologous blood plasma with concentration above 1000,000 platelets / microl, Platelets, with Growth Factors (CF) released by them playing an important role in scar. Methods: We've selected 48 patients after abdominoplasty and mammoplasty (aged between 22 and 68 years), an experimental, randomized, prospective work. The PRP was applied on the edges of a scar, for comparison with the opposite scar segment without the application of PRP. It was assigned a score to the best scar with values ranging from zero to three corresponding respectively to: indifferent, mildly, moderately and markedly better. The scars were evaluated by two plastic surgeons (Evaluator 1 and Evaluator 2), using photographs taken four days, one month, three months and 12 months post-operatively. Results: There was agreement among raters in 70% as the best scar being the one with PRP application in the fourth day after the

operation repeated at three months. Both assessments were statistically very close to agreement beyond chance, with moderate Kappa index (statistically significant above 0,40). There was no agreement between the two raters in the one-month postoperative evaluation. However, the two evaluators again present agreement at 12 months, with poor kappa index (below 0,20), not going beyond chance. As for the scores, there was the continuing trend of the first four days, with assessments moderately and markedly better for scars with PRP for both evaluators, but not statistically significant, with p equal to 0,82 for evaluator 1 and p equal to 0,070 for evaluator 2. One month after surgery, were considered without significance.

At three months, the scars treated with PRP were considered better. At 12 months, the evaluator 1 ranked around 40% of scars with PRP as markedly better and 17,7% of the scars without PRP as markedly better. Conclusion: The intradermal use of PRP was presented as promising, beneficially contributing in an evident way in the evolution of the healing process, with best results at 4 days and 90 days after surgery.

KEYWORDS: Blood; Platelet; Platelet-rich plasma; Wound healing; Platelet-derived growth factor; Abdominoplasty; Mammoplasty; Plastic surgery.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abdome 12, 42, 43, 149, 152, 165
Abdominoplastia 10, 149-152, 164
Aeroespaciais 29, 31
Anatomia 9, 11, 14-18, 20, 87
Angiografia 18
Anticorpos 101, 103-105, 107-109, 121
Antiplaquetários 101, 108
Aplicação 10, 12, 31, 40, 41, 56-58, 60, 66, 89, 90, 108, 124, 149, 151-154, 156, 162-164
Auditivo 9, 11, 72-76, 78-80, 82
Autofagia 22, 23, 26-28
Autólogo 12, 149, 163-165
Avaliação 10, 12, 42, 55, 73, 74, 76, 77, 80, 106, 131, 133, 136-141, 149, 152-154, 163, 164

B

Biocompatibilidade 89, 122
Biomarcadores 10, 12, 117, 118, 121, 124, 125, 131, 134, 136, 141, 143
Bioquímicos 90, 106
Bioreconhecimento 119, 121, 122
Biossensores 12, 117-122, 124, 125
Brilhante 85, 89, 90, 93-95

C

Cadáveres 16, 19, 20
Cadavéricos 85, 93
Calórica 27
Câncer 22, 118-120, 125-130, 134, 145

Cápsula 85, 86, 95

Capsulotomia 86

Catarata 9, 85, 86, 88, 91, 92, 94, 95

Celular 28, 43, 90, 93-95, 109, 118, 134, 136

Cicatriz 10, 132, 149, 150, 152-154, 156, 162, 163

Cirúrgicas 9, 14, 90, 91, 151, 164

Citometria 9, 12, 100-102, 107-109

Citotoxicidade 93-95

Clínico 10, 12, 40, 41, 52, 55, 60, 66, 73, 86, 89, 96, 101-103, 105-107, 124, 131, 136, 137, 142

Coelhos 89, 90, 94, 95

Condicionamento 22

Conhecimento 9, 11, 14-16, 20-23, 31, 38, 42, 87, 105

Corante 12, 85, 86, 88-92, 94, 96, 98, 107

Corneano 88, 94, 95

Cortical 9, 11, 72, 74-77, 79-83

Covid-19 22, 25, 26, 31, 35, 114

Crescimento 29, 94, 104, 109, 118, 134, 149, 150, 162, 165

Crise 100, 102, 104

Cromovitrectomia 85-91, 96

Crônica 9, 11, 24, 28, 37, 39, 41, 49, 51-55, 61, 66, 69, 131-133, 136, 137, 140, 141, 150

Cultura 15, 94, 95

D

Deficiência 75, 100, 102-104, 106

Densidade 22, 28, 29, 131, 134, 137, 139-141, 143

Dermatologia 162
Desportivo 24
Diagnóstica 9, 12, 100, 102, 106-109, 132, 141
Dismenorreia 10, 131, 132, 135-137, 140, 141, 143
Display 10, 12, 117, 118, 122-124, 126, 128-130
Dissecções 16, 17, 20
Dor 10, 12, 104, 131-138, 140-143

E

Ecografia 18
Endometriose 10, 12, 131-137, 140-142
Endotélio 104
Ensaio 10, 12, 101-103, 106, 106-108, 131, 136, 137
Ensino 11, 14, 19
Enzimática 103, 104, 106
Estéticas 12, 149, 150
Etonogestrel 12, 131, 137, 138, 143, 148
Evocado 9, 11, 72-76, 78, 80, 82
Evolução 9-11, 14, 15, 18, 27, 31, 55-57, 65, 103, 117, 124, 149, 164
Exercício 9, 11, 21-23, 25-31, 60

F

Facovitrectomia 91
Farmacotécnico 92, 94
Fator 19, 28, 56, 100-102, 104, 109, 115, 132, 150
Ferramenta 12, 24, 73, 100, 102, 106-109, 124, 125, 141
Fibras 88, 131, 134, 136, 137, 139-141, 143
Físico 9, 11, 18, 21-23, 25-29, 31, 42, 109
Fisiopatologia 104, 133

Flexibilidade 19, 24, 122
Fluxo 9, 12, 22, 28, 39, 43, 100-102, 107-109, 121, 124, 132
Fronteiras 11, 21-23, 31
Função 22, 25, 27, 29, 42, 60, 79, 106, 121, 141, 170
Funcional 27, 29, 49, 52, 55, 102, 104, 106, 134

G

Generalidades 42, 90
Gerações 15
Gravidade 24, 29, 107, 162

H

Hemograma 105, 109
Hemostasia 43, 106
Hipertrófica 39, 150
História 14, 20, 42, 61, 88
Homeostase 22, 27, 100, 102, 104, 118
Humana 9, 14-16, 21, 31, 82, 89

I

Implante 12, 40, 73, 131, 134-143
Imuno-histoquímica 22, 138, 139
Imunologia 25
Imunológico 22, 24-26, 132, 140, 141
Imunomediada 101, 104
Infantil 73, 79
Inflamatória 131, 132, 134, 137, 140, 153
Influenza 26
Interna 22, 24, 30, 35, 38, 42, 60, 70, 85-88, 95, 97-99, 114, 119, 126, 127, 143, 144
Intraoculares 9, 12, 85, 98
Intraoperatória 86, 90
Intrauterino 12, 131, 137, 138, 143

L

Levonorgestrel 12, 131, 137, 138, 143, 144, 146-148
Liberador 135, 137, 138, 143
Limitante 85, 86, 88, 95, 107
Linfático 118, 132
Linfócitos 25, 105, 108, 109, 134
Longevidade 22-24
Luteína 9, 12, 85, 93-95, 98

M

Macroautofagia 22
Mama 12, 22, 149, 153
Mamoplastia 10, 149-153, 156, 164
Manequim 15
Membrana 44, 85-88, 93, 95, 101, 121, 134, 136
Memória 11, 11, 25, 37, 54
Menstruação 132, 137, 138, 140
Mulheres 10, 12, 39, 102, 131, 132, 134-139, 141, 142, 151
Muscular 16, 23-25, 27, 29, 30, 43, 133

N

Nascidos 9, 11, 72, 74-77, 79, 80
Nervosas 88, 131, 134, 136, 137, 140, 141, 143
Neurociências 28

O

Oftalmológicas 90
Olhos 75, 85, 89, 90, 93, 95
Oncologia 12, 117
Organelas 27
Ortopedia 162

P

Parasitas 26
Pélvica 10, 131-133, 136, 137, 140, 141, 143

Peptídeos 10, 105, 117, 118, 121-125

Phage 10, 12, 117, 118, 122-124, 126, 128-130

Plaquetas 10, 12, 101, 102, 104, 106-108, 134, 149, 150, 152, 153, 162, 164, 165

Plasma 10, 12, 102, 106, 110-113, 115, 149, 150, 152, 153, 164-166

Plástica 149-151, 162, 165

Potencial 9, 11, 22, 27, 31, 72, 74-76, 79, 80, 82, 86, 118, 121, 125, 162, 164

Prematuro 73

Proliferação 28, 29, 86, 93-95, 134, 135

Proteolítica 104-106, 134

Púrpura 9, 12, 100-104, 109-116

R

Randomizado 12, 56, 59, 60, 103, 131, 136, 137, 149, 151

Recém 29, 73, 74, 76

Recuperação 9, 14, 18, 27-29, 86, 123, 162

Resposta 9, 25, 26, 28, 40, 72-80, 94, 104-106, 109, 118, 120, 132, 134, 136, 137, 140, 141

Ressonância 18, 106, 133, 137

Retiniana 86, 88, 89, 95

Retiniano 88, 89, 94, 95

Rico 10, 12, 134, 149, 150, 152, 153, 164, 165

S

Sangue 38, 43, 55, 104, 134, 149, 150, 152

Segurança 9, 18, 85, 89, 151

Sistema 12, 16, 18, 19, 22-28, 30, 39, 40, 43, 44, 57, 58, 60, 73, 80, 107, 118, 119, 124, 131, 132, 137, 138, 140, 142, 143

Solúvel 131, 134, 136-138, 140, 141

T

Tecido 17-19, 27, 30, 38, 43, 44, 57, 88-90, 101, 104, 118, 131-134, 150

Terapêutica 9, 40, 60, 100, 102, 105, 107, 136, 162

Termo 9, 11, 16, 18, 19, 26, 43, 72, 74, 76, 77, 79, 80, 85, 86, 95, 137, 138, 151

Tomografia 17, 18, 87, 88

Toxicidade 85, 86, 89, 90, 94, 95

Trombocitopênica 9, 12, 100-104, 115

Trombótica 9, 12, 100-104, 115

U

Usuárias 12, 131, 135, 136, 140, 142, 143

V

Vacinas 25

Vasculopatia 162

Vasoclusiva 104

Vírus 25, 26, 33, 123, 126

Vitrectomia 86, 87, 91, 92

Vítreo 9, 85-89, 91-99

Vitreorretiniana 9, 85-89, 92, 94, 95

Z

Zeaxantina 9, 12, 85, 93-95, 98

SOBRE A ORGANIZADORA

Marcia Arantes Marques

Possui graduação em Medicina(2003) e residência em Clínica Médica (2005) ambos pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Residência Médica em Reumatologia (2012) pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) com titulação em densitometria óssea pelo Colégio Brasileiro de Radiologia (2015). Mestrado em Plantas Medicinais e Fitoterápicos (2017) pela Universidade Paranaense (UNIPAR). Professora do Curso de Medicina da UNIPAR. Exerce a função de Médica Reumatologista e orientadora da Pós-Graduação em Residência Médica - Clínica Médica no hospital CEMIL.



Avanços Científicos em Medicina 3

www.bookerfield.com



contato@bookerfield.com



[@bookerfield](https://www.instagram.com/bookerfield)



Bookerfield Editora



ISBN 978-658992944-4



9

786589

929444

Avanços Científicos em Medicina 3

www.bookerfield.com



contato@bookerfield.com



[@bookerfield](https://www.instagram.com/bookerfield)



Bookerfield Editora



ISBN 978-658992944-4



9

786589

929444