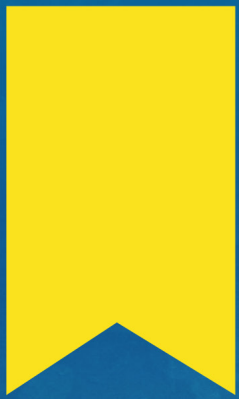


VOL. 07 - Nº 19 - 2021 • ISSN 2447-9071



RBMC

REVISTA BRASILEIRA MILITAR DE CIÊNCIAS

The background of the cover features a classical statue head in profile, facing right. Overlaid on the face is a futuristic, glowing blue visor or helmet. The entire image has a blue and purple color scheme with a textured, particle-like background.

fpm
FACULDADE
DA POLÍCIA MILITAR

Órgão oficial de divulgação da Faculdade da Polícia Militar

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP

Rev Revista Brasileira Militar de Ciências. / Waldemar Naves do Amaral (org.). - Goiânia: Conexão Propaganda e Editora, 2021.
82p.: il.

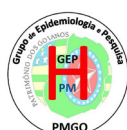
Modo de acesso: <https://rbmc.emnuvens.com.br/rbmc>

ISSN 2447-9071 (versão on-line)

1. Substâncias- psicotóxicas. 2 Polícia- militar. 3. Docência .
4. Medicina. I. Título.

CDU: 61 (051)

DIREITOS RESERVADOS - É proibida a reprodução total ou parcial da obra, de qualquer forma ou por qualquer meio sem a autorização prévia e por escrito do autor. A violação dos Direitos Autorais (Lei n.º 9610/98) é crime estabelecido pelo artigo 48 do Código Penal.



Todos os direitos reservados e protegidos pela Lei nº 9610 (09/02/98). Nenhuma parte poderá ser reproduzida sem autorização prévia, por escrito, da Fundação Tiradentes, Associação Brasileira de Saúde das Polícias Militares e Corpo de Bombeiros Militares e Academia Nacional de Saúde das Polícias Militares e Corpos de Bombeiros Militares do Brasil, sejam quais forem os meios empregados.

COORDENAÇÃO

Comunicação Social da Fundação Tiradentes
Av. Contorno, nº 2.185 - Setor Central - Goiânia-GO
CEP: 74055-140 / Telefone: (62) 3269-3348



Conexão Propaganda e Editora
Rua nº 227-A, Esq. com R. 252, Qd.36, Lt.11/22
Setor Leste Universitário - Goiânia - Goiás / Brasil
Telefone: (62) 3202-4090 - Email: comercial@conexapro.com.br

EXPEDIENTE

Revista Brasileira Militar de Ciências

Órgão oficial de divulgação da Faculdade da Polícia Militar.

EDITOR CHEFE

Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral

Diretor Acadêmico da Faculdade da Polícia Militar

EDITORES ADJUNTOS

Prof. Dr. Sérgio Henrique Nascente Costa

Prof. Dr. Rogério José de Almeida

CONSELHO EDITORIAL

Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha

(Universidade Federal de Goiás – UFG)

Prof. Dr. Maurício Yonamine

(Universidade de São Paulo – USP)

Prof. Dr. Rhonan Ferreira da Silva

(Universidade Federal de Goiás – UFG)

Prof. Dr. Stephan Pflugmacher Lima

(Faculty of Biológica and Environmental Science – Finlândia) **Prof.**

Dr. Tiago Severo Peixe

(Universidade Estadual de Londrina – UEL)

Prof. Dr. Wilson de Melo Cruvinel

(Pontifícia universidade Católica de Goiás – PUC Goiás)

Prof. Dr. Sidnei Moura e Silva

(Universidade de Caxias do Sul)

Profa. Dra. Jéssica Cristina dos Santos

(Radboud University – Holanda)

EDITORES ASSOCIADOS

Cel. Cléber Aparecido Santos

Ten. Cel. Maria Bárbara Franco Gomes

Cap. Hérica Gomes Falcão

Prof. Dr. Ademir Schmidt

Profa. Dra. Alessandra Marques Cardoso

Prof. Dr. Clayson Moura Gomes

Prof. Dr. Frank Sousa Castro

Prof. Dr. Hermínio Maurício da Rocha Sobrinho

Profa. Dra. Isabela Cinquini Junqueira

Profa. Dra. Patrícia dos Santos

Prof. Dr. Roberpaulo Anacleto Neves

Profa. Dra. Suzy Darlen Soares de Almeida

Profa. Dra. Vania Cristina Rodríguez Salazar

A Revista Brasileira Militar de Ciências se utiliza do sistema de revisão por pares (peer review) dos manuscritos submetidos para publicação. Todos os manuscritos submetidos passam por uma avaliação inicial do Editor Chefe ou Adjunto no que se refere à formatação, língua e regras da revista. Em um segundo momento o artigo é enviado a dois pareceristas ad hoc específicos da área do artigo para avaliação, comentários, sugestões, adequações, dando o seu parecer sobre a aceitabilidade do artigo. Essa etapa tem uma duração máxima de 15 dias. Os pareceristas submetem as avaliações no sistema da revista. Em seguida o Editor Chefe ou Adjunto fará a devolutiva do parecer ao autor de correspondência do manuscrito, para as devidas adequações, aprovação ou recusa do manuscrito. No caso de adequações ou correções, os autores terão, no máximo, quinze dias para a devolução ao Editor Chefe ou Adjunto, por meio do sistema da revista.

O processo se repete com o Editor Chefe ou Adjunto que deverá conferir se foram atendidas as sugestões e adequações junto com os pareceristas ad hoc, em um prazo de até cinco dias. Cumprida essa fase, o Editor Chefe ou Adjunto é comunicado via parecer e esse comunicará o autor de correspondência. Os manuscritos são aceitos levando-se em consideração a originalidade, relevância e a contribuição científica de acordo com a abrangência e escopo da Revista Brasileira Militar de Ciências.

INSTRUÇÃO AOS AUTORES

Antes da submissão de um manuscrito os autores devem se inteirar do escopo da Revista Brasileira Militar de Ciências, suas características, processo de revisão e políticas editoriais. Os autores devem estar cientes e ter a certeza que o manuscrito não foi publicado anteriormente e que não está em fase de avaliação por outro periódico. No ato da submissão os autores assumem a responsabilidade por não estarem usando dados falsos ou copiados (plagios). A Revista Brasileira Militar de Ciências se utiliza de métodos eletrônicos para identificação de similaridade que, se detectado, será devolvido imediatamente aos autores. Todos os manuscritos, ao serem submetidos, deverão apresentar obrigatoriamente a seguinte documentação:

Autoria: Cada pessoa consignada como autor deve ter participado efetivamente do trabalho e assumir a responsabilidade pública pela parte do artigo com a qual contribuiu e o documento submetido deve ter sido cuidadosamente lido por todos os autores, que devem concordar com o seu conteúdo. Esses aspectos devem fazer parte de uma declaração de responsabilidade pela autoria.

Direitos autorais: Os autores devem assinar o documento de transferência de direitos autorais à Revista Brasileira Militar de Ciências.

Conflito de interesses: Devem ser mencionadas as situações que podem influenciar de forma inadequada o desenvolvimento ou as conclusões do trabalho, tais como a participação societária nas empresas produtoras das drogas ou dos equipamentos citados ou utilizados no trabalho, assim como em suas concorrentes da mesma. São também consideradas fontes de conflito os auxílios recebidos, as consultorias, as relações de subordinação no trabalho, etc.

Aspectos éticos: Todos os manuscritos que lidem com qualquer tipo de participação humana devem estar devidamente documentados de todo o processo de avaliação por um Comitê de Ética em Pesquisa, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), seguindo as Resoluções 466/12 e 510/16 do Conselho Nacional de Saúde.

Artigo que trate de pesquisa clínica com seres humanos deve incluir na seção Métodos, declaração de que os sujeitos do estudo assinaram o termo de consentimento livre e informado, bem como o(s) nome(s) do(s) Comitê(s) de Ética e o(s) número(s) do(s) parecer(es).

No caso de trabalhos envolvendo experimentação animal, os autores devem indicar na seção Material e Métodos que foram seguidas as normas contidas no Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS) Ethical Code for Animal Experimentation (WHO Chronicle 1985; 39(2):51-6) e os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA (www.cobea.org.br), e deverão estar de acordo com a Lei Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 (Lei Arouca), e com avaliação de uma Comissão de Ética no Uso de Animais. Deverão ainda contemplar, ainda, a Declaração dos Direitos do Homem e do Animais.

Todos os ensaios controlados aleatórios (randomized controlled trials) e clínicos (clinical trials) submetidos à publicação devem ter o registro em uma base de dados de ensaios clínicos. Essa é uma orientação da Plataforma Internacional para Registros de Ensaios Clínicos (ICTRP), da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). As instruções para o registro estão disponíveis no endereço eletrônico do ICMJE (http://www.icmje.org/clin_trialup.htm) e o registro pode ser feito na base de dados de ensaios clínicos da National Library of Medicine, disponível em <http://clinicaltrials.gov/ct/gui>.

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

1) Primeira Página

- Título do artigo em português e inglês, que deverá ser conciso, porém informativo;
- Nome completo de cada autor, sem abreviações;
- Afiliação institucional (nome completo da instituição a que está afiliado);
- Nome, endereço, telefone e e-mail do autor correspondente;

2) Idiomas

Serão aceitos artigos em Português e Inglês. No caso da língua inglesa o manuscrito deverá ser traduzido por um especialista ou empresa com certificação nesse tipo de serviço. A editoria da Revista Brasileira Militar de Ciências não faz correções da língua inglesa.

3) Resumo e Abstract

Deve haver uma versão do Resumo em Português e um abstract em inglês com, no máximo, 300 palavras. Ambas as versões devem ter o mesmo conteúdo. O resumo expressará o assunto tratado, ressaltando, em seguida, os objetivos, os métodos, os resultados e as conclusões. Devem acompanhar resumo e abstract entre três e seis palavras-chaves e keywords provenientes do DeCS, separadas por ponto e vírgula.

4) Tipos de trabalhos aceitos

a) Artigo Original: Deve conter Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos (se houver), Referências. O trabalho deverá ter no máximo 5.000 palavras (incluindo as referências), autores até seis, quadros, tabelas e figuras (ilustrações, fotos e gráficos) até cinco e conter até 30 referências. Caso seja necessário, Resultados e Discussão podem aparecer conjuntamente em um mesmo título.

b) Artigo de Revisão: Revisões (integrativa, sistemática e metanálise) abordando tema de importância para a área. Deverá ter até 5.000 palavras (incluindo as referências), tabelas, e figuras (ilustrações, fotos e gráficos) até o número de cinco e no máximo 60 referências;

FORMATAÇÃO GERAL

1) Formato: O trabalho deve ser apresentado em formato A4 (21 x 29,7 cm) utilizando-se WORD para Windows. A fonte a ser utilizada é Times New Roman, tamanho 12 para o texto e 11 para legendas de figuras e tabelas. Os pés de tabelas o tamanho da fonte deverá ser 10. Todos os capítulos primários e secundários do manuscrito devem ser tamanho 12 com a primeira letra maiúscula e negrito.

2) Margens: As folhas devem apresentar margem esquerda e superior de 3 cm; direita e inferior de 2,5 cm. Layout de cabeçalho de 1,25 cm e de rodapé 2,5 cm.

3) Espaçamento: Todo o texto deve ser digitado com espaço 1,5 e justificado. As legendas das ilustrações e tabelas devem ser digitadas em espaço simples, justificado. As referências, ao final do trabalho, devem ser separadas entre si por espaço 1,5 e justificado, sem recuo da segunda linha e formatação do parágrafo de 6 pontos após.

4) Paginação: Todas as folhas do trabalho devem ter a numeração começando a partir da primeira folha de parte textual (Introdução), em algarismos arábicos, no canto superior direito da folha, tamanho 11.

5) Abreviaturas e Siglas: Quando aparece pela primeira vez no texto, a forma completa do nome precede a sigla, colocada entre parênteses. Exemplo: Faculdade da Polícia Militar (FPM). **6) Quadros, figuras, tabelas e gráficos:** Devem ser inseridos no corpo do texto com antecedência chamada textual.

7) Citações: Devem seguir a formatação Vancouver. As referências devem ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Identificar as referências no texto, nos quadros e nas legendas com algarismos arábicos sobrescritos. Se forem citadas mais de duas referências em sequência, apenas a primeira e a última devem ser digitadas, sendo separadas por um traço (Exemplo: 6-14).

8) Agradecimentos: São opcionais e, quando presentes, devem aparecer antes das referências bibliográficas.

9) Fonte de financiamento: De acordo com a Portaria n. 206 de 4 de setembro de 2018, todos os trabalhos produzidos ou publicados, em qualquer mídia, que decorram de atividades financiadas, integral ou parcialmente, pela CAPES deverão, obrigatoriamente, fazer referência ao apoio recebido. A Revista Brasileira Militar de Ciências amplia essa obrigatoriedade para todo e qualquer instituição que tenha financiado a pesquisa a ser publicada na revista.

10) Referências: A listagem das referências bibliográficas segue a formatação de texto indicada, por número em estilo Vancouver.

Declaração de Direito Autoral

A submissão de originais para a Revista Brasileira Militar de Ciências implica na transferência, pelos autores, dos direitos de publicação digital. Os autores somente poderão utilizar os mesmos resultados em outras publicações indicando claramente a Revista Brasileira Militar de Ciências como o meio da publicação original. Em virtude de ser uma revista de acesso aberto, permite-se o uso gratuito dos artigos em aplicações educacionais, científicas, não comerciais, desde que citada a fonte (por favor, veja a Licença Creative Commons no rodapé desta página)

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

A influência da musicoterapia no tratamento auxiliar da doença de Parkinson: uma revisão da literatura MARCELO BORGES FIGUEIRA DA MOTA, RENATA CASTRO FAGUNDES BOMFIM, TEREZA RAQUEL ALCÂNTARA-SILVA, DELSON JOSÉ DA SILVA, HERMÍNIO MAURÍCIO DA ROCHA SOBRINHO	08
<i>In silico</i> prospection of antineoplastic molecules from the <i>Artemisia annua</i> species ISABELA SACIENTI LAVEZO, JURACY CIRINO DE SOUZA NETO, TÚLIO NUNES PINTO, LEONARDO LUIZ BORGES	17
Prevalência de diabetes <i>mellitus</i> e hipertensão arterial em soldados do Batalhão de Infantaria da Aeronáutica Especial de Belém – BINFAE-BE JÉSSICA MÁXIMO DOS SANTOS, LUIZ CARLOS SANTANA DA SILVA	23
Saúde bucal de crianças com trissomia do cromossomo 21 HELOYSA MELO DE FREITAS, RENATO CANEVARI DUTRA DA SILVA, ANA PAULA FELIX ARANTES, MARCOS MARCONDES DE GODOY	31
Investigation of molecular mechanisms of cannabinoids with neuromodulator activity using <i>in silico</i> tools ALINE LINS DA SILVA, THAIS LINHARES SILVA, LEONARDO LUIZ BORGES	38
Emprego de ferramentas <i>in silico</i> para avaliação da atividade biológica dos compostos presentes em <i>Curcuma longa</i> MATHEUS ARAÚJO BORGES, CRISTIANO MENDONÇA SARKIS, GABRIEL ELIAS DE LIMA BARROS, GABRIELLY DE SOUZA CORREIA, LEONARDO LUIZ BORGES	49
Prevalência do uso de drogas de abuso por policiais militares do estado de Goiás no período de 2016 a 2021 GRAZIELLI LISBOA DA SILVA SCHIMIDT, ANNA CAROLINY SOUZA SILVA, JESSICA CRISTINA SANTOS DE OLIVEIRA, VANIA CRISTINA RODRIGUEZ SALAZAR	55
Qualidade microbiológica de cosméticos industrializados: estudo experimental com bases faciais líquidas LORENA ROCHA MARTINS GOMES, NIKARY STEFANY PAULA SANTOS, ALESSANDRA MARQUES CARDOSO	62
Predição biológica <i>in silico</i> de marcadores químicos encontrados em <i>Arachis hypogaea</i> KÁLLITA POLIANA DA SILVA, ANA BEATRIZ FERRO DE MELO, EDUARDO CHAVES FERREIRA COELHO, LEONARDO LUIZ BORGES	69
Interface entre a urocultura, o EAS e o hemograma nas infecções do trato urinário ALEXANDRE HENRIQUE NUNES DE MORAES, LIDYANNE CAMELO FELICIANO, REBECA JACOB DE LIMA, RIZIA JACOB DE LIMA, ALESSANDRA MARQUES CARDOSO	78

Atividade militar e a ciência

A Revista Brasileira Militar de Ciências (RBMC) é um periódico quadrimestral de publicação técnico-científica, de Revisão Duplo-Cega por Pares (Double Blind Peer Review) da Faculdade da Polícia Militar (FPM), em meio eletrônico, que tem como a sua base fundamental a publicação de estudos interdisciplinares em todas as grandes áreas do conhecimento, em parceria com o Grupo de Epidemiologia e Pesquisa (GEP) do Comando de Saúde da Polícia Militar do Estado de Goiás. O objetivo principal é divulgar estudos que contribuam com a disseminação do conhecimento nas áreas de Ciências Militares e Tecnológicas, Ciências Humanas, Jurídicas e Sociais, Ciências da Saúde, Ciências Biológicas e do Meio Ambiente. A RBMC recebe submissões em suas seções: Artigos originais provenientes de pesquisas (quantitativas e/ou qualitativas) e artigos de revisão (integrativa, sistemática e metanálise). A RBMC estimula a publicação de trabalhos provenientes de variadas fontes, sendo aberta a contribuições nacionais e internacionais. Está devidamente cadastrada com o número internacional ISSN (2447-9071) que normatiza as publicações seriadas. A RBMC não cobra nenhuma taxa dos autores para submeterem ou publicarem seus artigos. O acesso ao conteúdo publicado é gratuito e livre.



TEN. CEL. CLEBER APARECIDO SANTOS

DIRETOR GERAL DA FACULDADE DA POLÍCIA MILITAR



CEL. WALDEMAR NAVES DO AMARAL

EDITOR-CHEFE DA REVISTA BRASILEIRA MILITAR DE CIÊNCIAS

A influência da musicoterapia no tratamento auxiliar da doença de Parkinson: uma revisão da literatura

The influence of musicotherapy in Parkinson's disease auxiliary treatment: a review

Marcelo Borges Figueira da Mota¹, Renata Castro Fagundes Bomfim¹, Tereza Raquel Alcântara-Silva², Delson José da Silva², Hermínio Maurício da Rocha Sobrinho^{1,3}

¹ Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

² Universidade Federal de Goiás – UFG

³ Universidade Estadual de Goiás – UEG

Resumo

A doença de Parkinson (DP) é caracterizada, principalmente, por uma disfunção do sistema de gânglios basais, produzindo sintomas motores e não motores. O interesse pelo estudo da musicoterapia no tratamento auxiliar de pacientes com DP baseia-se em evidências científicas que comprovam que a música é capaz de melhorar a marcha e o comportamento dos pacientes. Tem por objetivo descrever os principais benefícios, efeitos e a influência da musicoterapia no tratamento auxiliar da DP, enfatizando a sua eficácia no parâmetro motor dos pacientes. Trata-se de uma revisão integrativa da literatura, com seleção dos estudos nas bases de dados Portal de Periódicos da Capes, PubMed, Scielo e SCOPUS, por meio dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), nos idiomas português e inglês, no período de 2015 a 2021. De maneira geral, a terapêutica resultou na melhora do equilíbrio postural, bem como no aumento do comprimento do passo do paciente e no aumento da velocidade da marcha, o que levou a uma maior independência funcional, acarretando desfechos positivos na progressão da doença. A musicoterapia tem se tornado uma ferramenta com grande potencial para o tratamento auxiliar da doença de Parkinson. Esse instrumento tem proporcionado melhor qualidade de vida aos pacientes, aliviando os sintomas motores e não motores ao estimular a produção dopaminérgica.

Palavras-Chave: Doença de Parkinson; Terapias complementares; Musicoterapia.

Abstract

Parkinson's disease (PD) is characterized mainly by a dysfunction of the basal ganglia system, producing motor and non-motor symptoms. The interest in studying music therapy in the auxiliary treatment of PD patients is based on scientific evidence that proves that music is capable of improving the gait and behavior of patients. The aim is to describe the main benefits, effects, and influence of music therapy in the auxiliary treatment of PD, emphasizing its effectiveness in the motor parameters of patients. Integrative review of the scientific literature worldwide, with selection of studies in the databases Portal of journals of Capes, Pubmed, Scielo and SCOPUS, through health descriptors, in Portuguese and English, in the period from 2015 to 2021. In general, the therapy resulted in an improvement in postural balance, as well as an increase in the patient's stride length and an increase in gait speed, which led to greater functional independence, leading to positive outcomes in the progression of the disease. Music therapy has become a tool with great potential for the auxiliary treatment of Parkinson's disease. This instrument has provided better quality of life to patients, relieving motor and non-motor symptoms by stimulating dopaminergic production.

Keywords: Parkinson; Alternative therapies; Music therapy.

Contato para correspondência:

Hermínio Maurício da Rocha
Sobrinho

E-mail:

herminio.sobrinho@gmail.com

Conflito de interesse: Não

Financiamento: Recursos próprios

Recebido: 12/10/2021

Aprovado: 07/12/2021



Introdução

A doença de Parkinson (DP) é uma doença degenerativa do sistema nervoso central¹, que resulta da morte progressiva de neurônios da substância negra e do lócus ceruleus², ocasionando diminuição da produção dopaminérgica, levando a alterações motoras (bradicinesia, acinesia, tremor de repouso, rigidez muscular e instabilidade postural) e não motoras (destacam-se a depressão, os distúrbios autonômicos, cognitivos e a demência)^{1,3,4}.

A DP é a segunda doença neurodegenerativa mais frequente em todo o mundo⁵, atinge ambos os sexos, com prevalência de homens em relação a mulheres⁶. Espera-se que até 2030, o número de indivíduos que viverão com a doença chegará a 9 milhões⁷. O tratamento da DP abrange o aspecto cirúrgico (estimulação cerebral profunda), o farmacológico e o não farmacológico². A levodopa é o medicamento de maior eficácia dentro da perspectiva farmacológica para o controle sintomático⁸. Terapias alternativas, como: o yoga, fisioterapia, grupos de apoio, dança, exercícios físicos e a musicoterapia são alternativas terapêuticas não farmacológicas que produzem efeitos capazes de aliviar sintomas de doenças neurodegenerativas².

A musicoterapia consiste em um agrupamento de técnicas baseadas na música e seus elementos (som, ritmo, melodia e harmonia), que são utilizadas no tratamento de distúrbios somáticos, psíquicos ou psicossomáticos. Pode ser realizada em grupo ou individual, além de ser categorizada em abordagens ativa ou receptiva.⁹ Essa ferramenta tem se tornado, ao longo dos anos, um potencial terapêutico na área da saúde, principalmente de doenças que acometem a capacidade física, cognitiva e emocional dos indivíduos, como a doença de Parkinson.^{10,11}

O interesse pelo estudo da musicoterapia no tratamento auxiliar de pacientes com DP baseia-se em evidências científicas que comprovam que a música é capaz de melhorar a marcha e o comportamento dos doentes.¹² O método da estimulação auditiva rítmica (EAR) consiste em um treinamento no qual a marcha dos pacientes é guiada por um estímulo rítmico auditivo.⁸ Esse estímulo é capaz de atuar como modulador da atividade/função cerebral colaborando para minimizar sintomas da doença.⁶

A musicoterapia, no decorrer dos últimos anos, vem se apresentando como um campo de pesquisa altamente promissor para a área da saúde, em suas inúmeras teorias, tem orientado práticas com resultados promissores no tratamento de patologias que afetam a capacidade física, cognitiva ou subjetiva das pessoas, como é o caso de alguns distúrbios neurodegenerativos, como a doença de Parkinson.^{6,8,12}

Diante do exposto, o objetivo geral do presente trabalho foi descrever os principais benefícios, efeitos e a influência da musicoterapia no tratamento auxiliar da doença de Parkinson (DP), enfatizando a sua eficácia no parâmetro motor dos pacientes.

Métodos

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura científica, que se configura como a busca por unir o conhecimento atual sobre uma temática específica, de forma a incluir uma variedade mais ampla de estudos, que outras revisões não permitem, abrangendo estudos experimentais e não-experimentais no levantamento de dados. Visa auxiliar na visão crítica do que está sendo publicado cientificamente, apresentando assim, uma visão mais ampla dos dados científicos publicados.²⁷ Para a busca dos estudos foram utilizadas as bases de dados eletrônicas: Portal de Periódicos da Capes, PubMed/MedLine (US National Library of Medicine National Institutes of Health), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e SCOPUS Elsevier, utilizando-se os seguintes Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) com combinações múltiplas por meio dos operadores booleanos "AND" e "OR" entre os termos: *doença de Parkinson, musicoterapia, música, neuromusicoterapia* e seus correlatos em inglês.

Os artigos foram selecionados segundo os critérios do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)*²⁸. A partir do objetivo geral do estudo seguiu-se uma seleção sistematizada em quatro etapas, sendo elas: Identificação, Seleção, Elegibilidade e Inclusão. A busca foi realizada de forma independente por dois pesquisadores e foram confrontados os resultados para se chegar a amostra final.

Foram incluídos artigos publicados no período de 2015 a 2021, nos idiomas português e inglês; que abordem o tema da musicoterapia com sessões realizadas em grupo ou individual; pacientes participantes homens e/ou mulheres de qualquer faixa etária, totalizando 147 artigos. Foram excluídos artigos duplicados, artigos de revisão, trabalhos apresentados em eventos, capítulos de livros e artigos fora dos objetivos propostos, totalizando 121 exclusões. O procedimento metodológico desse estudo é descrito no fluxograma que se segue (Figura 1). Ao final da pesquisa, foram selecionados e analisados 26 artigos, de acordo com os critérios de inclusão estabelecidos neste estudo.

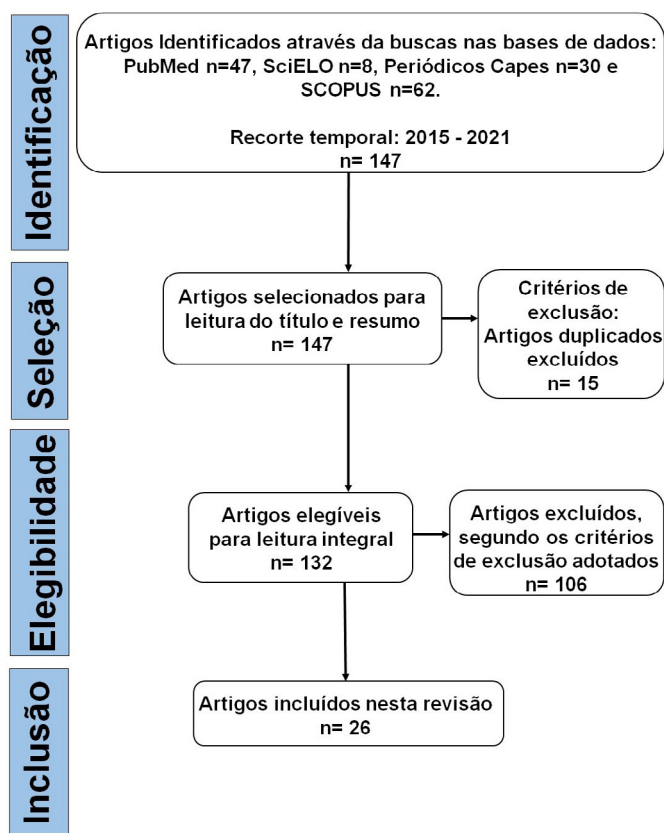


Figura 1. Algoritmo representativo da metodologia da pesquisa, fluxograma baseado no modelo PRISMA.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Resultados e Discussão

A DP é uma doença neurodegenerativa incapacitante caracterizada pela téttrade clássica de bradicinesia, tremor de repouso, rigidez plástica e distúrbios posturais.^{1,3,7}

O tremor é considerado como o sintoma inicial da DP, e em 50% dos indivíduos inicia-se nas extremidades distais. Esse aspecto é percebido nos períodos de repouso, e diminui ou desaparece com o estabelecimento de algum movimento.⁸

A bradicinesia, diminuição progressiva da velocidade e/ou da amplitude de movimento, ocasionada pela ausência de dopamina no estriado é o sintoma mais incapacitante da DP.⁸ Ela provoca uma lentidão e um prolongamento do movimento, que por consequência ocasiona dependência das atividades diárias.^{5,9}

Indivíduos com DP apresentam anormalidades de postura e do equilíbrio, as quais culminam em alterações da marcha.⁸ A marcha torna-se em bloco, exibindo-se com passos curtos, rápidos e arrastados, sem participação dos movimentos braçais.^{5,9} A postura é caracterizada pela cabeça anteriorizada e

pelo aumento da cifose torácica com uma flexão de joelhos. Como o reflexo postural está diminuído, as quedas tornam-se mais frequentes.⁸

Além dos sintomas motores, a DP também apresenta sintomas não motores (SNM), cada vez mais reconhecidos por impactar na qualidade de vida dos pacientes.^{1,6,8} Dentre os SNM destaca-se os sensitivos, disautonômicos, involuntários, psiquiátricos, entre outros. Em se tratando dos sintomas involuntários, destaca-se a mioclonia e a distonia.¹ Os sintomas psiquiátricos se revelam por depressão, ansiedade, apatia, agitação, ilusões e distúrbios do sono.⁵

Tratamento da doença de Parkinson

Tratamento não farmacológico

O *Guideline da National Institute for Health and Care Excellence* de 2017 cita como manejo não farmacológico dos sintomas motores e não motores da DP a fisioterapia, a atividade física, a terapia ocupacional, a terapia de linguagem, a nutrição e a intervenção especializada. Apesar da musicoterapia não estar na lista, tem recebido uma posição de destaque no que diz respeito à melhora dos pacientes em condições neurológicas, como Parkinson.¹³

Musicoterapia

Desde a antiguidade a música vem sendo utilizada como um instrumento terapêutico.⁵ Apenas no século XX, a musicoterapia se organiza no âmbito de aprofundar-se nas pesquisas acerca dos efeitos terapêuticos e preventivos que a música provoca nos seres humanos, sendo uma abordagem promissora.^{9,11}

A União Brasileira das Associações de Musicoterapia (UBAM) define a musicoterapia como sendo “um campo de conhecimento que estuda os efeitos da música e da utilização de experiências musicais, resultantes do encontro entre o/a musicoterapeuta e as pessoas assistidas. A prática da Musicoterapia objetiva favorecer o aumento das possibilidades de existir e agir, seja no trabalho individual, com grupos, nas comunidades, organizações, instituições de saúde e sociedade, nos âmbitos da promoção, prevenção, reabilitação da saúde e de transformação de contextos sociais e comunitários; evitando dessa forma, que haja danos ou diminuição dos processos de desenvolvimento do potencial das pessoas e/ou comunidades”.¹⁴

A musicoterapia pode ser aplicada tanto individualmente como em grupo. Em grupo, busca-se o convívio e a amizade, o que é capaz de amenizar os aspectos psicológicos negativos relacionados à incapacidade física. Estimula-se ainda a comu-

nicação interpessoal, o afeto, o aprendizado, proporcionando uma melhor qualidade de vida ao doente. De forma individual, personaliza-se a terapêutica aos diferentes quadros patológicos do paciente, como deficiência mental, perturbação motor, afecções psicossomáticas.¹¹

A musicoterapia pode ser categorizada em duas abordagens: ativa ou receptiva. Na modalidade ativa, os pacientes participam do canto, tocam instrumentos musicais, fazem análises líricas, dançam e compõem músicas. Na modalidade receptiva, os participantes ouvem músicas, mas não é necessário tocar ou cantar. É importante ressaltar que ambas as abordagens envolvem musicoterapeutas e uma seleção de músicas baseada na preferência do paciente, o que ajuda a responder à intervenção, expressando seus sentimentos, emoções ou memórias despertadas.^{9,11}

Na prática, os pacientes são estimulados a realizarem exercícios de voz associados a movimentos da mímica facial,¹⁵ exercícios de canto; exercícios de ritmo, enfatizando-se passos largos, postura ereta e balanço dos membros superiores.¹¹

Estimulação Auditiva Rítmica (EAR)

Na DP, a supressão da secreção dopaminérgica aos núcleos da base (NB) acarreta hipoatividade do núcleo da base medial e das vias motoras complementares, o que altera a regulação interna da amplitude de movimento e do tempo.¹⁶ Esse processo leva a perda da capacidade de manter estabilidade rítmica da marcha.¹⁷ Os pacientes com DP têm dificuldade semelhante com as sincronizações rítmicas motoras e com a adaptação às mudanças no decorrer da deambulação.⁸

Visto que os déficits motores na DP são fortemente associados à falta de temporização, a estimulação auditiva rítmica (EAR), como metrônomo, batida musical ou ritmo de palmas, é uma estratégia promissora para reabilitação da marcha.^{4,8,18} Os benefícios da EAR se explicam uma vez que os pacientes apresentam um grau mínimo de processamento temporal dos estímulos externos, que podem ser suficientes para apoiar o início do movimento e sua execução.^{2,16} Sugere-se que a EAR permita a interação do córtex auditivo com um ou mais dos três principais sistemas neurais que controlam o desempenho motor: o sistema corticostriatal, o sistema corticocerebelar ou sistema pré-motor primário e o sistema cortical sensorio-motor.^{6,19} Esse processo é esclarecido pela atividade residual do circuito NB-talamocortical que determina a competência de elaborar previsões temporais por meio do tempo interno.^{2,15}

No paciente parkinsoniano, há interrupção no eixo NB – área motora suplementar - córtex pré-motor, o que gera recrutamento do cerebelo, órgão essencial para formulação tempo implícito.^{6,8} Esse incremento fornece ao doente a possibilidade

de utilizar pistas rítmicas para auxiliar nas escolhas baseadas no tempo, como quando o próximo passo deve ocorrer.¹⁵

Exposições duradouras e prolongadas à música podem ampliar a formação de neurotrofinas produzidas em momentos de grande stress. O resultado é o aumento da sobrevivência dos neurônios, além de modificações de parâmetros de conectividade na denominada neuroplasticidade.^{5,9,12,20} A música consegue aumentar a liberação de dopamina, diminuindo a sintomatologia na DP.^{6,21} É possível arquitetar o fluxo cerebral⁹, impulsionar e coordenar as atividades cerebrais, como modulação nos ritmos cardíaco e respiratório, modulação nos pulsos elétricos do cérebro e regulação do eixo sono-vigília.⁹

A EAR é capaz de aperfeiçoar a marcha por meio da geração de uma harmonia entre os passos e batida. A partir da música, um estímulo externo, as áreas parietal lateral, as áreas pré-motoras e o tálamo são parcialmente mais envolvidas.¹⁷ Dessa forma, torna-se possível aumentar o estímulo muscular e a excitabilidade dos neurônios dos circuitos dos núcleos da base com débito de dopamina.⁸⁻⁹

Durante a realização da terapia com EAR os pacientes são instruídos a deambular enquanto combinam seus passos com a batida da música ou do metrônomo, o que ajuda a superar o congelamento motor típico da DP.^{17,19} A instabilidade postural associada a complicações motoras adversas, que é dificilmente contida pela terapia farmacológica, também pode ser amenizada pela EAR.⁶

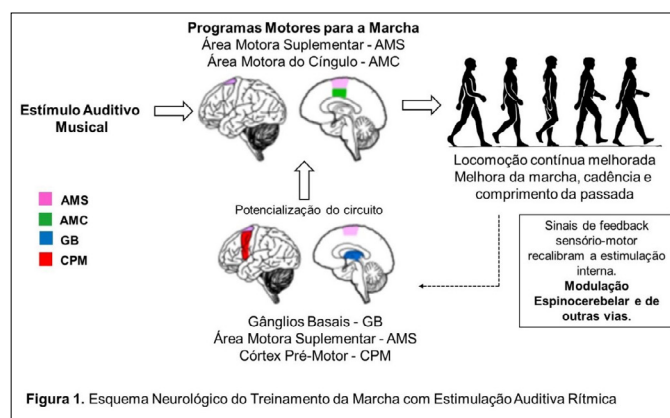


Figura 2. Esquema Neurológico do Treinamento da Marcha com Estimulação Auditiva Rítmica

Fonte: Adaptada de Dalla Bella et al., 2015.

Legenda: Devido ao tempo interno prejudicado, os programas motores realizados na AMS e AMC não são acessados facilmente sem o estímulo auditivo rítmico. A EAR é capaz de criar sinais de feedback sensoriais e motores que recalibram o sistema interno GB-AMS-CPM, modulando vias como espinocerebelar, espinotalâmica, espinorreticular e espino-hipotalâmica. Dessa forma, o paciente adquire melhora da marcha, da locomoção contínua, da cadência e do comprimento do passo.

Conclui-se que, a partir da EAR, ocorre aumento da excitabilidade dos neurônios motores espinais, por meio da via retículo espinal, diminuindo o tempo necessário para os músculos reagirem a um delimitado estímulo motor.⁹ Percebe-se o aperfeiçoamento da iniciação rítmica e do planejamento motor.² Além disso, nota-se um ajuste na relação entre os fatores espaço-temporais da marcha e melhora na execução da dupla tarefa, isto é, escutar música (cognição) e deambular.^{8,9} O esquema neurológico do treinamento da marcha com estimulação auditiva rítmica é ilustrado na figura 2.

Efeitos e benefícios da musicoterapia

A DP é uma doença crônica e progressiva, e ainda que a terapia farmacológica seja utilizada, não se observa a paralização do seu agravamento.⁸ Diante disso, recomenda-se a associação de algumas práticas não farmacológicas ao tratamento, como a musicoterapia. Esse recurso estimula o paciente a melhorar, manter ou restaurar um estado de bem-estar.⁹

A música tem uma grande influência nos processos cognitivos, sendo capaz de melhorar as funções cognitivas de atenção, percepção, linguagem, memória e raciocínio intelectual.^{6,9} Além disso, é notório a melhora da marcha, no que concerne à velocidade, à cadência e à amplitude do passo. Os pacientes aprimoram o seu equilíbrio e diminuem a quantidade e o risco de quedas.^{8,9}

No decurso do tratamento auxiliar com a musicoterapia, pacientes aperfeiçoam a dicção e a expressão facial, sendo provocada por técnica vocal com movimentos de boca, língua e músculos da face.^{12,15} Exercícios rítmicos trouxeram benefícios para a coordenação motora limitada pelo enrijecimento muscular.⁶ Testemunhou-se aumento da autoestima, alegria e sociabilidade. A musicoterapia também contribui para uma melhor qualidade de vida, sociabilidade e redução nos níveis da depressão.^{5,11} O quadro 1 sintetiza os principais benefícios da musicoterapia no tratamento adjuvante da doença de Parkinson.

Quadro 1. Principais Benefícios da Musicoterapia no tratamento auxiliar da doença de Parkinson

- Melhora a autoestima, alegria e sociabilidade
- Estimula a produção e liberação de dopamina
- Melhora a cognição e memória
- Melhora a marcha
- Melhora o equilíbrio
- Melhora a coordenação motora
- Aperfeiçoa a dicção e expressão facial
- Reduz os níveis da depressão;
- Melhora o bem-estar e qualidade de vida do paciente

Fonte: MURGIA et al., 2018 (8); BELLA, 2018 (5); BRAUNLICH et al., 2018 (6); HARRISON, MCNEELY, EARHART, 2017 (17); ELLIS et al., 2015 (7); KHAN et al., 2015 (11); SCHIAVIO, ALTENMULLER, 2015 (22).

Musicoterapia neurológica (MTN) no processo de neuroreabilitação de doenças neurodegenerativas

A neuroreabilitação é um processo de tratamento que envolve profissionais de várias especialidades voltadas à recuperação parcial ou total de pessoas portadoras de algum tipo de deficiência neurológica física, sensorial e/ou cognitiva, definitivas ou temporárias.⁹ Este processo engloba o paciente, sua família e os especialistas responsáveis pelo atendimento.²¹ A equipe de especialistas deve discutir todas as dificuldades apresentadas pelo paciente, decidindo sobre o que é possível de ser alcançado através de um programa de tratamento.^{10,21} Os objetivos do programa de tratamento são definidos e acordados, posteriormente, são acompanhados para análise do progresso do tratamento.¹⁰

A musicoterapia é uma modalidade de neuroreabilitação que envolve profissionais especialistas em saúde mental com o objetivo de aumentar a plasticidade sináptica cerebral, o que supre as necessidades físicas, mentais, sociais e cognitivas dos parkinsonianos.^{9,11} Define-se musicoterapia neurológica (MTN) como aplicação terapêutica da música para estimular mudanças nas áreas cognitivas, motoras e de linguagem após doença neurológica.⁹ A musicoterapia neurológica abrange quatro pilares: a reabilitação guiada pela neurociência que engloba a terapêutica baseada em conceitos de estudos clínicos; o aprendizado motor rítmico; os modelos de plasticidade cerebral, pelos quais a música é capaz de estabelecer parâmetros da cadeia neural através da modulação temporal da entrada sensorial; por fim, os padrões musicais, que funcionam como modelos de facilitação e padronização e que facilitam a melhora do movimento motor, da fala e das funções cognitivas.^{6,9,10,15}

Três técnicas senso-motoras são tratadas na musicoterapia neurológica: EAR, que desenvolve e aprimora o trabalho motor rítmico psicológico; técnica do desempenho terapêutico com instrumentos musicais (TIMP), facilitando os movimentos funcionais; e Incremento Sensorial Padronizado (PSE), que sistematiza padrões de movimentos no tempo e espaço, facilitando atividades cotidianas.⁹⁻¹¹ Existe uma potente conexão entre a marcha, o tempo interno inato e a percepção rítmica dos indivíduos, o que leva ao estudo dos benefícios de se aplicar a música como terapia na DP. Sabe-se que o tempo musical percebido pelos seres humanos compreende o intervalo de 40-300 bpm, sendo o intervalo de 120-130 o preferido. Esse ritmo confortável, utilizado como EAR é capaz de adequar os parâmetros espaço-temporais da marcha.¹⁹

Política Nacional de Práticas Integrativas de Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS)

Em 2006, quando foi criada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), eram ofertados apenas cinco procedimentos. Após 10 anos, em 2017, foram incorporadas

14 atividades, chegando as 19 práticas disponíveis atualmente à população, e dentre elas está a musicoterapia. Pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) serão beneficiados com 10 novas Práticas Integrativas e Complementares (PICS). Os tratamentos utilizam recursos terapêuticos, baseados em conhecimentos tradicionais, voltados para prevenir diversas doenças, como depressão e hipertensão. Com as novas atividades, ao todo, o SUS passa a ofertar 29 procedimentos à população.²³

A política traz diretrizes gerais para a incorporação das práticas nos serviços e compete ao gestor municipal elaborar normas para inserção da PNPIC na rede municipal de saúde, contribuindo assim para a consolidação de um modelo de atenção humanizada e centrada na integralidade do indivíduo, o que fortalece os princípios fundamentais dos SUS.

A música é um potente estímulo multimodal que transmite informação visual, auditiva e motora para o cérebro, o qual tem uma rede específica para seu processamento, caracterizada por regiões fronto-tempo-parietais. Essa ativação é útil no tratamento da DP por meio da reabilitação e da estimulação de conexões neuronais alteradas.⁶ Alguns estudos científicos demonstrando a eficácia da musicoterapia no tratamento auxiliar da doença de Parkinson são apresentados, de forma sintetizada, na Tabela 1.

Tabela 1. Estudos científicos demonstrando a eficácia da musicoterapia no tratamento auxiliar da doença de Parkinson

AUTORIA	CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO	MODELO DE INTERVENÇÃO	RESULTADOS
MURGIA et al., 2018 (8).	Estudo clínico randomizado; N= 32 participantes DP;	Duração de 5 semanas, com 2 sessões de 45 minutos em cada uma, sendo 20 dedicados ao treinamento com estimulação auditiva rítmica (EAR) ecológica ou artificial. Além disso, foram convidados a realizar o mesmo protocolo de EAR pelo menos 3 vezes/semana. A avaliação foi feita de forma individual. Posteriormente, realizaram os exercícios diariamente por 12 semanas em suas casas, sem supervisão.	Programas de reabilitação integrados com a EAR são eficazes, melhorando a velocidade da marcha, cadência, comprimento e largura do passo e duração do ciclo da marcha.

BRAULINCH et al, 2018 (6).	Caso-Controlle; N = 15 pacientes DP e N= 14 Indivíduos Controles da mesma idade.	Os participantes realizaram quatro tarefas com ou sem Estimulação Auditiva Rítmica (EAR) em duas velocidades diferentes, as quais foram avaliadas por meio da Ressonância Magnética Funcional. Imagens anatômicas do cérebro dos participantes foram adquiridas no equipamento de Ressonância Magnética durante a execução funcional das tarefas comportamentais. Um software foi utilizado para a análise das imagens cerebrais correlacionando-as com as redes de conectividade funcional e os dados do comportamento motor rítmico.	Os indivíduos com DP apresentaram uma conectividade mais forte entre o sistema auditivo, controle executivo e as redes motoras (cerebelares), compensando um comprometimento do sistema motor.
READY et al., 2018 (4).	Estudo clínico randomizado N=84 indivíduos adultos jovens	A linha de base da marcha dos pacientes foi medida, os quais selecionaram 8 músicas para o teste de marcha. Posteriormente, os pacientes completaram 10 ensaios de marcha aleatoriamente e por último responderam um questionário relacionado a sua história com a dança e música e um subteste para medir a capacidade de percepção da batida.	Foram analisados comprimento da passada, cadência, velocidade e tempo de suporte de membro duplo. A EAR tem capacidade de aumentar a estabilidade da marcha, quando combinada com a percepção da batida da música.
DOTOV et al., 2017 (18).	Caso-controle; N = 19 pacientes com DP e N = 19 indivíduos saudáveis.	Foram realizadas 18 sessões em 3 ensaios de 30 minutos, em que os pacientes percorreram 3,6 metros, durante 2 dias. Usou-se fones de ouvido via um sistema de monitoramento de som sem fio como forma de transmissão da sugestão auditiva. A taxa do estímulo auditivo foi aumentada em 10 %.	A partir da EAR, evidenciou-se sincronização dos passos, aumento no comprimento da marcha e aumento na velocidade da marcha.

TOLLESON et al., 2015 (3).	Estudo clínico randomizado N = 14 pacientes com DP e FOG (sintomas de congelamento da marcha); N = 20 com DP sem FOG; N = 19 indivíduos saudáveis.	Participantes foram submetidos a tarefas auditivas rítmicas sincronizadas analisadas de acordo com o paradigma de temporização motora.	Houve melhora no tempo de sincronização motor, aprimorando a marcha.		
BELLA et al., 2015 (2)	Caso controle; N = 15 pacientes com DP leve; N = 20 indivíduos controles saudáveis.	Foram realizadas 3 sessões por semana, de 30 minutos, durante 1 mês. Os pacientes caminharam ouvindo canções folclóricas alemãs familiares. A batida musical foi aumentada em 10% para alguns pacientes e diminuída em 10% para outros.	Melhora da percepção temporal; aperfeiçoamento de habilidades sensorio-motoras; aumento da velocidade da marcha; aumento do comprimento do passo.	Estudo piloto; N= 30 com DP e N = 25 indivíduos controles saudáveis.	Os indivíduos do grupo experimental participaram de sessões de musicoterapia (45 minutos) 4 vezes/semana durante 4 semanas. Foi solicitado ao grupo controle que permanecessem ativos e realizassem atividades diárias. Os resultados demonstraram melhora significativa na maioria dos parâmetros espaço-temporais da marcha, além de estratégias compensatórias para controle de movimento e postura.
BELLA et al., 2017 (24).	Caso controle; N = 14 pacientes com DP; N = 20 indivíduos controles saudáveis.	Foram realizadas 3 sessões por semana durante 4 semanas. Em 7 pacientes, a frequência da batida musical foi aumentada em 10%. Nos outros 7 pacientes, a frequência foi diminuída em 10%.	Utilizando-se a técnica da EAR, evidenciou-se que os pacientes conseguiram uma melhor sincronização dos passos, um aumento da velocidade da marcha e um aumento significativo do comprimento do passo.		
TAUTH et al., 2018 (19).	Estudo clínico randomizado; N = 60 pacientes portadores de DP divididos em grupo experimental (n=30, 24 semanas de treinamento diário de marcha com EAR) e grupo controle (n=30, 8 a 16 semanas de treinamento).	Pacientes foram divididos aleatoriamente em 2 grupos (experimental e controle), realizando 30 minutos diários de treinamento de marcha, em casa, com música incorporada. O grupo experimental completou 24 semanas de treinamento com EAR e o grupo controle interrompeu entre as semanas 8 e 16.	O treinamento com a EAR reduziu de forma significativa o número de quedas na DP e modificou parâmetros da marcha, como velocidade e comprimento da passada.		
COCHEN DE COCK et al., 2018 (25).	Caso controle, N = 39 pacientes com DP e N = 39 indivíduos controles saudáveis.	Foi medido a marcha no início, com pistas auditivas rítmicas, nos dois grupos. Foram avaliados a cognição, habilidades rítmicas e musicais. Uma resposta foi considerada positiva quando a EAR levou a um aumento significativo da velocidade da marcha.	Habilidades rítmicas e musicais, que podem ser moduladas pelo treinamento musical, podem aumentar os efeitos benéficos da EAR na DP.		

A terapia baseada na música apresenta excelentes resultados no tratamento de doenças que alteram a capacidade física, cognitiva e/ou subjetiva dos pacientes. Na tabela 1, destacamos dez estudos em que a musicoterapia apresentou resultados eficazes no tratamento auxiliar de pacientes com DP. De maneira geral, a terapêutica resultou na diminuição das exigências de equilíbrio postural, bem como no aumento do comprimento do passo do paciente e no aumento da velocidade da marcha, o que levou a uma maior independência funcional, acarretando desfechos positivos na progressão da doença.

A musicoterapia tem proporcionado melhor qualidade de vida aos pacientes, aliviando os sintomas motores e não motores ao estimular a produção dopaminérgica.^{8,9} À vista disso, o Sistema Único de Saúde do Brasil (SUS), em 2017, incluiu a musicoterapia no rol de procedimentos da Política Nacional de Práticas Integrativas e complementares.

Estudar a musicoterapia e seus efeitos benéficos, dessa forma, ampara os indivíduos com DP em várias competências. Há aperfeiçoamento das funções físicas e mentais atingidas, dado que a música propicia um sincronismo no sistema nervoso central, estimulando e coordenando as atividades do cérebro. Ocorre, também, minimização dos sintomas depressivos e de ansiedade advindos a partir da descoberta da doença, o indivíduo conseguirá lidar melhor com o seu sofrimento e com a sua insegurança.

Conclusão

A musicoterapia, portanto, tem se tornado uma ferramenta com grande potencial para o tratamento auxiliar da doença de Parkinson. Esse instrumento tem proporcionado melhor qualidade de vida aos pacientes, aliviando os sintomas motores e não motores ao estimular a produção dopaminérgica. Atualmente, a musicoterapia faz parte do rol de procedimentos terapêuticos da Política Nacional de Práticas Integrativas e complementares.

Esta terapia facilita o sequenciamento motor para geração de movimentos, o que favorece o engajamento do paciente,

na realização de atividades, e, conseqüentemente, potencializa ganhos funcionais. Ainda, a técnica da EAR, uma ferramenta da musicoterapia, promove benefícios ao auxiliar no processo de temporização. O paciente, além de se sentir bem ao escutar uma música que o relaxe, tem a possibilidade de aumentar as atividades do complexo espaço-temporal, além de prolongar a vida dos neurônios.

Ademais, estudos foram realizados com pequeno universo amostral, intervenções curtas, avaliando apenas efeitos em curto prazo, além da maioria analisar pacientes avaliados com DP de leve a moderada. Assim, para explorar melhor o tema, são necessários mais ensaios clínicos randomizados utilizando-se a musicoterapeuta, maior universo amostral e tempo de intervenção, avaliando resultados a longo prazo e pacientes com DP grave.

Referências

1. Trost W, Leh F, Houvenaghel JF, Choppin S, Drapier S, Sauleau P, et al. Subthalamic deep brain stimulation influences complex emotional musical experience in Parkinson's disease. *Neuropsychologia*. 2018; 117:278-286.
2. Bella SD, Benoit CE, Farrugia N, Schwartze M, Kotz SA. Effects of musically cued gait training in Parkinson's disease: beyond a motor benefit. *New York Academy of Sciences*. 2015; 1337:77-85.
3. Tolleson CM, Dobolyi D, Roman OC, Kanoff K, Barton S, Wylie SA, et al. Dysrhythmia of time movements in Parkinson's disease and freezing of gait. *Brain Research*. 2015; 1624:222-231.
4. Ready EA, McGarry LM, Rinchon C, Holmes JD, Grahn JA. Beat perception ability and instructions to synchronize influence gait when walking to music-based auditory cues. *Gait & Posture*. 2018; 68:555-561.
5. Bella SD. Music and movement: Towards a translational approach. *Neurophysiologie Clinique/ Clinical Neurophysiology*. 2018; 48:377-386.
6. Braunlich K, Seger CA, Jentink KG, Buard I, Kluger BM, Thaut MH. Rhythmic auditory cues shape neural network recruitment in Parkinson's disease during repetitive motor behavior. *European Journal of Neuroscience*. 2018; 49(6):849-858.
7. Ellis RJ, Ng YS, Zhu S, Tan DM, Anderson B, Schlaug G, et al. A validate Smartphone-Based Assessment of Gait and Gait Variability in Parkinson's Disease. *Plos One*. 2015; 10. Doi: 10.1371/journal.pone.0141694.
8. Murgia M, Pili R, Corona F, Sors F, Agostini TA, Bernardis P, et al. The Use of Footstep Sounds as Rhythmic Auditory Stimulaton for Gait Rehabilitation in Parkinson's Disease: A Randomized Controlled Trial. *Frontiers in Neurology*. 2018; 9. Doi: 10.3389/fneur.2018.00348.
9. Moundjian L, Sarkamo T, Leone C, Leman M, Feys P. Effectiveness of music-based interventions on motricity or cognitive functioning in neurological populations: A systematic review. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*. 2016; 53(3):466-482.
10. Robb SL, Hanson-Abromeit D, May L, Hernandez-Ruiz E, Allison M, Beloit A, et al. Reporting quality of music intervention research in healthcare: A systematic review. 2018; 38:24-41.
11. Khan WU, Yap IAMO, O'Neill D, Moss H. Perceptions of music therapy for older people among healthcare professionals. *Med Humanit*. 2015; 42:52-56.
12. Vik MBD, Skeie GO, Vikane E, Specht K. Effects of music production on cortical plasticity within cognitive rehabilitation on patients with mild traumatic brain injury. *Brain Injury*. 2018; 32(5):634-643.
13. National Institute for Health and Care Excellence - NICE GUIDELINE. Parkinson's disease in adults. 2018. Disponível em: <<https://www.nice.org.uk/terms-and-conditions#notice-of-rights>>.
14. União Brasileira das Associações de Musicoterapia. Definição Brasileira de Musicoterapia. 2018. [acesso em 15 jul 2019]. Disponível em: <<http://ubammusicoterapia.com.br/definicao-brasileira-demusicoterapia/>>
15. Kotz SA, Gunter T. Can rhythmic auditory cuing remediate language-related deficits in Parkinson's disease? *New York Academy of sciences*. 2015; 1337:62-68.
16. Harris R, Leenders K, De Jong BM. Speech dysprosody bust no music "disprosody" in Parkinson's disease. *Brain & Language*. 2016; 163:1-9.
17. Harrison EC, Mcneely ME, Earthart GM. The feasibility of singing to improve gait in Parkinson disease. *Gait & Posture*. 2017; 53:224-229.
18. Dotov DG, Bayard S, Cochen de Cock S, Geny C, Driss V, Garrigue G, et al. Biologically-variable rhythmic auditory cues are superior to isochronous cues in fostering natural gait variability in Parkinson's disease. *Gait & Posture*. 2017; 51:64-69.
19. Thaut MH, Rice RR, Braun Janzen T, Hurt-Thaut CP, McIntosh GC. Rhythmic auditory stimulation for reduction of falls in Parkinson's disease: a randomized controlled study. *Clinical Rehabilitation*. 2018; 33(1):34-43.
20. Dauvergne C, Bégel V, Gény C, Puyjarinet F, Laffont I, Dalla Bella S. Home-based training of rhythmic skills with a serious game in Parkinson's disease: Usability and acceptability. *Physical and Rehabilitation Medicine*. 2018; 61(6):380-385.

21. Albani G, Veneziano G, Lunardon C, Vinci C, Daniele A, Cossa F, et al. Feasibility of home exercises to enhance the benefits of tango dancing in people with Parkinson's disease. *Complementary Therapies in Medicine*. 2019; 42:233-239.
22. Schiavio A, Altenmüller E. Exploring music-based rehabilitation for Parkinsonism through embodied cognitive Science. *Frontiers in Neurology*. 2015; 6. Doi: 10.3389/fneur.2015.00217.
23. Valadares C. Ministério da Saúde inclui 10 novas práticas integrativas no SUS. 2018. [acesso em 30 jul 2019]. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42737-ministerio-da-saude-inclui-10-novas-praticas-integrativas-no-sus>>
24. Bella SD, Benoit CE, Farrugia N, Keller PE, Obrig H, Mainka S, et al. Gait improvement via rhythmic stimulation in Parkinson's disease is linked to rhythmic skills. *Scientific Reports*. 2017; 7. Doi: 10.1038/srep42005.
25. Cochen De Cock V, Dotov DG, Ihalainen P, Bégel V, Galtier F, Lebrun, C, et al. Rhythmic abilities and musical training in Parkinson's disease: do they help? *Nature Partner Journals*. 2018. Doi: 10.1038/s41531-018-0043-7.
26. Bukowska AA, Krezalek P, Mirek E, Bujas P, Marchewka A. Neurologic Music Therapy Training for Mobility and Stability Rehabilitation with Parkinson's Disease – A Pilot Study. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2016; 9. Doi: 10.3389/fnhum.2015.00710.
27. Souza MT, Silva MD, Carvalho R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. *Einstein*. 2009;8(1):102-6.
28. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Altman D, Antes G, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Med*. 2009;6(7):e1000097.

In silico prospection of antineoplastic molecules from the *Artemisia annua* species

Prospecção in silico de moléculas antineoplásicas a partir da espécie *Artemisia annua*

Isabela Sacienti Lavezo¹, Juracy Cirino de Souza Neto¹, Túlio Nunes Pinto¹, Leonardo Luiz Borges^{1,2}

¹ Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

² Universidade Estadual de Goiás – UEG

Abstract

Lung cancer kills the most men and the second that kills the most women (behind only breast cancer). The *in silico* study makes it possible to search for new drugs at low cost, with a greater possibility of rapid manufacturing and a lower future cost for their manufacture. The objective of this study was to analyze an antineoplastic activity of the compounds of *Artemisia annua* to obtain an active substance that can reach the molecular target of the cancer cells. Compounds with antineoplastic effects were selected using Scielo, PubMed, and ScienceDirect platforms. Afterward, the first screening of compound compounds was performed with a high ability to predict biological and pharmacological activity through the PASS Prediction, Pubchem, and Swiss ADME platforms. After the current screening, we determined the toxicological and molecular target prediction by the Portox II and Swiss Target Prediction platforms. As a final part, molecular docking and redocking were performed for a compound using the PDB server and the GOLD Suite 5.7.0 program. For another, we completed the pharmacophoric mapping using the Binding DB and PharmaGist database. The compounds scopoletin and caffeic acid were the most promising structures in *in silico* models capable of interacting with EGFR (epidermal growth factor) and MM-9 (metalloproteinase type 9), respectively. The results obtained that these structures are promising to be tested in *in vitro* and *in vivo* tests about the antineoplastic activity. In addition, *in silico* analyses help to understand the biological effects of *A. annua* extracts regarding antineoplastic evidence.

Keywords: Medicinal Plants; Scopoletin; Antineoplastic.

Resumo

O câncer de pulmão é o com maior taxa de mortalidade entre homens e o segundo que mata mais mulheres (atrás apenas do câncer de mama). Os estudos *in silico* possibilitam a busca de novos candidatos a fármaco com menor custo e com mais rapidez. O objetivo deste estudo foi analisar a potencial atividade antineoplásica dos compostos de *Artemisia annua* para a obtenção de moléculas mais promissoras que possam atingir o alvo molecular das células cancerosas. Os compostos presentes na espécie *A. annua* foram selecionados nas plataformas Scielo, PubMed e ScienceDirect. Posteriormente, a primeira triagem de compostos foi realizada para direcionar as potenciais atividades biológicas e farmacológicas por meio das plataformas Pubchem, PASS Prediction e SwissADME. Após esta triagem, foi realizada a predição toxicológica e na busca de alvos pelas plataformas Portox II e Swiss Target Prediction, respectivamente. Posteriormente, o docking foi realizado empregando o programa GOLD Suite 5.7.0. Também foi realizado o mapeamento farmacofórico usando o servidor PharmaGist. Os compostos escopoletina e ácido caféico foram as estruturas mais promissoras em modelos *in silico* capazes de interagir com EGFR (fator de crescimento epidérmico) e MM-9 (metaloproteinase tipo 9), respectivamente. Os resultados obtidos sugerem que essas estruturas são promissoras para serem testadas *in vitro* e *in vivo* sobre a atividade antineoplásica. Além disso, as análises *in silico* ajudam a compreender os efeitos biológicos dos compostos presentes na espécie *A. annua* em relação às evidências antineoplásicas.

Palavras-chave: Plantas Medicinas; Escopoletina; Antineoplásico.

Contato para correspondência:

Leonardo Luiz Borges

E-mail:

leonardo.cbb@pucgoias.edu.br

Conflito de interesse: Não

Financiamento: Recursos próprios

Recebido: 18/10/2021

Aprovado: 04/11/2021



Introduction

In Brazil, lung cancer kills the most men and the second that kills the most women (behind only breast cancer). In 2019, according to SIM (Mortality Information System), there were 29,354 cancer deaths, 16,733 men, and 12,621 women. (2019 – Cancer Mortality Atlas – SIM). According to INCA (National Cancer Institute), the Estimates of new cases are 30,200, with 17,760 men and 12,440 women¹.

In Brazil, lung cancer kills the most men and the second that kills the most women (behind only breast cancer). In 2017, according to the SIM (Mortality Information System) of the Ministry of Health, more than 27 thousand people died from this cause¹. According to the National Cancer Institute, in Brazil in 2016, 17,330 and 10,890 new tracheal, bronchial, or lung cancer were detected in men and women, respectively, with an incidence of 17.49 cases/ 100,000 men and 10.54 cases/100,000 women^{1,2}.

Although smoking is the leading cause of lung cancer, accounting for more than two-thirds of deaths globally, other carcinogens have also been identified, such as exposure to diesel engine exhaust and air pollution, among others¹.

Lung cancer starts in the cells that line the bronchi and parts of the lung, such as the bronchioles or alveoli. There are two main types of lung cancer, non-small cell lung cancer (80-85% of cases) and small cell lung cancer (10-15% of cases). Non-small cell lung cancer can be subdivided into adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, large cell carcinoma (undifferentiated), adenosquamous carcinoma, and sarcomatoid carcinoma, the last two being less common. In addition, there are other types of lung cancer such as adenoid cystic carcinomas, lymphomas, sarcomas, carcinoid lung tumors. However, these have different treatments and are rarer. In Brazil, the incidence of adenocarcinoma has increased about squamous cell carcinoma³.

Medicinal plants are an essential source for discovering new candidate bioactive structures, especially in the area of antineoplastic substances. For example, about 60% of the drugs currently used in cancers originate from medicinal plants, such as paclitaxel, vincristine, vinblastine, etoposide².

Artemisia annua is a plant species that was first mentioned as an alternative to treat fever and chills, as it has antimalarial mechanisms. As such, it is used throughout Asia and Africa as tea and juice to treat malaria. In addition, its main compound, artemisinin (ARS), is used alone in several parts of the world. The plant is restricted to its antimalarial activity and has antineoplastic activity *in vivo* and *in vitro*³.

In silico studies can provide the prospect of new drug candidates with more incredible speed and lower cost. These studies

also have the advantage of minimizing the use of laboratory animals in preclinical investigations. Furthermore, the *in silico* tools are based on the principle of chemical similarity. Similar substances bind to similar targets, where the comparison between compounds is made using similarity research based on ligands^{4,5}.

Thus, this study aimed to evaluate, using *in silico* tools candidate molecules for antineoplastic activity from the *Artemisia annua* species.

Methods

A virtual search was carried out for plants with possible antineoplastic activities against cancer on the platforms PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>) and Scielo (<https://scielo.org/>), where articles about the *Artemisia annua* species were selected.

Molecular structures were obtained from the PubChem website (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). In the first screening of molecules, the PASS Prediction server (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>)⁶ was used to structurally select the molecules with a greater probability of having antineoplastic activity. The pharmacokinetic prediction analysis was performed using the SwissADME server (<http://www.swissadme.ch/>)⁷ and a toxicological prediction performed in Protox II (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6031011/>)⁸. Finally, a projection to verify the most likely targets of the selected ligands was performed using the Swiss Target Prediction server (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)⁷.

Molecular docking was performed after defining the molecular targets of each compound. First, the Protein Data Bank website (PDB; <https://www.rcsb.org/>)⁸ was used to obtain the crystallized molecular structure of metalloproteinase 9 (MM-9) and then through the GOLD program Suite 5.7.0⁹ models of interaction with selected ligands of the species *A. annua* were constructed. To validate the model used in the molecular docking analysis, a redocking analysis with the co-crystallized ligand was performed to verify the model's robustness.

For the pharmacophoric mapping, the Binding DB database (<https://www.bindingdb.org/bind/index.jsp>) was used to identify the most potent compounds (lowest IC₅₀ values) with antagonist activity of the Epidermal growth factor receptor (EGFR). A pharmacophoric model was generated from a set through the ParmaGist server (<https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PharmaGist/>)⁹ of known molecules for verification of spatial features potentially responsible for the biological activity investigated.

Results and Discussion

After the bibliographical survey, 37 compounds were found in the species *A. annua*, 24 of which were selected after the first screening using the PASS prediction server for presenting properties of interest (properties associated with antineoplastic effect). In this first screening, the activities related to the antineoplastic impacts were selected (antineoplastic, antimutagenic, and TP53 expression enhancer). The inclusion criteria for these compounds was the use of a value of $P_a > 0.7$ (predicted probability of the structure to present a specific activity suggested in the software) and values of $P_i < 0.05$ (predicted probability of the molecule not showing a particular activity indicated in the software). Such predictions are based on the premise that compounds with similar structures have similar biological activities, thus potentially interacting with similar active sites. In this way, the server compares the molecule under study with a bank of molecules and establishes the level of structural similarity to predict possible biological activities¹⁰.

Through the SwissADME server, structures classified as druglike, according to Lipinski's four criteria or "rule of five" were selected. According to these rules, a candidate molecule is more likely to be orally bioavailable if: the molecular weight is less than 500 Da (a), the calculated octanol/water partition coefficient ($\log P$) is less than 5 (b), the compound has no more than 5 hydrogen bond donors (c) and the compound has no more than 10 hydrogen bond acceptors (d). In addition, gastrointestinal absorption, blood-brain barrier permeability, and interaction with cytochromes at the hepatic level were also predicted. These parameters assess the similarity of compounds to known drugs and represent a complex balance of several structural features. The present study selected substances with potential gastrointestinal absorption, without permeability to the blood-brain barrier, and lower interactions with cytochrome P450. Two molecules were finally selected within these criteria: caffeic acid and scopoletin (Table 1)⁷.

After classifying the molecules, the prediction of toxicity was performed using Protox II. This step allows you to define safe dosage parameters for each compound, analyzing through a scale and acute toxicity, hepatotoxicity, carcinogenesis, cytotoxicity, mutagenicity, among others. Scopoletin had a median lethal dose (LD_{50}) of 3800mg/kg, caffeic acid had an LD_{50} of 2980 mg/kg. Both showed hepatotoxicity, immunotoxicity, and carcinogenicity. However, they can be considered safe because they need high doses to generate toxicities. The toxicity scale ranges from 1 to 6, with 1 being the most toxic and 6 the least toxic; we obtained class 5 in our compounds¹¹.

SwissTargetPrediction searches for the similarity between the structures of target molecules and ligands known from

humans, evaluating the structure of a compound, which it needs to interact with a biologically active target. Thus, it allows bioinformatics-based analysis of resources and contributes to developing alternative research methods that rely on computer simulations, minimizing the use of animals, cost, and time in scientific research. Both compounds, caffeic acid, and scopoletin were evaluated for interaction with human receptors, with caffeic acid interacting with metalloproteinase type 9 (MMP-9) and scopoletin interacting with epidermal growth factor receptor (EGFR). MMP-9 is necessary for bone remodeling, wound healing, angiogenic revascularization of ischemic tissues, and remyelination; it is also involved in human pathological processes, one of its associations being cancer cell invasion, metastasis, and tumor progression. Its relationship with carcinogenesis is mainly due to the release of epidermal growth factor that leads to angiogenic change during carcinogenesis¹²⁻¹⁴.

EGFR is part of the ErbB family of transmembrane receptor tyrosine kinases involved in signal transduction pathways that regulate proliferation and apoptosis. EGFR mutations are more frequent in tumors with adenocarcinoma histology, never smokers or light smokers, women with non-small cell lung cancer, and in patients with East Asian ethnicities¹²⁻¹⁴.

Table 1. Biological, pharmacokinetic, and toxicological properties were obtained using *in silico* tools with compounds obtained from the *Artemisia annua* species.

Compounds	Biological activity	PA	PI	Lipinski	GI absorption	BB permeant	Interaction with cytochrome	Toxicity
Artemisinin	Antineoplastic (melanona)	0.889	0.003	Yes, 0 violation	High	Yes	CYP1A2 inhibitor	LD ₅₀ :4228 mg/kg
	Antineoplastic	0.853	0.007					Expected toxicity class: 5
	Antileukemic	0.806	0.004					
Caffeic acid	Membrane integrity agonist	0.955	0.003	Yes, 0 violation	High	No	None	LD ₅₀ : 2980 mg/kg
	Mucomembranous protector	0.945	0.003					Expected toxicity class: 5
	Antimutagenic	0.845	0.003					
	TP53 expression enhancer	0.776	0.014					
	MMP9 expression inhibitor	0.831	0.003					
	Cytoprotectant	0.702	0.005					
Scopoletin	Antimutagenic	0.898	0.002	Yes; 0 violation	High	Yes	CYP1A2 inhibitor	LD ₅₀ :3800 mg/kg
	Antineoplastic	0.723	0.022					Expected toxicity class: 5

The redocking of the co-crystallized ligand with the target MMP-9 (PDB: 2OW1) was successfully performed, and its results are shown in Fig. 1. The *in silico* experiments showed that caffeic acid works well at the binding site of MMP- 9, having 5 hydrogen bonds and binding distance between caffeic acid and MMP-9 proteins ranging from 1.9-6.5 (only one being 6.5). The result of the redocking analysis pointed to 7 poses with RMSD (Root Mean Standard Deviation) values lower than 1Å.

In squamous cell carcinoma (SCC), the processes of invasion and metastasis are regulated by a complex system dependent on the interaction between neoplastic cells and host tumor cells, which occur as a consequence of degradation of the basement membrane and extracellular matrix by the metalloproteinase of the matrix (MMP). MM-9 degrades collagen type IV, which is essential for the basement membrane, participating in the invasion of the stroma and blood vessels, necessary for carcinogenesis^{13,14}.

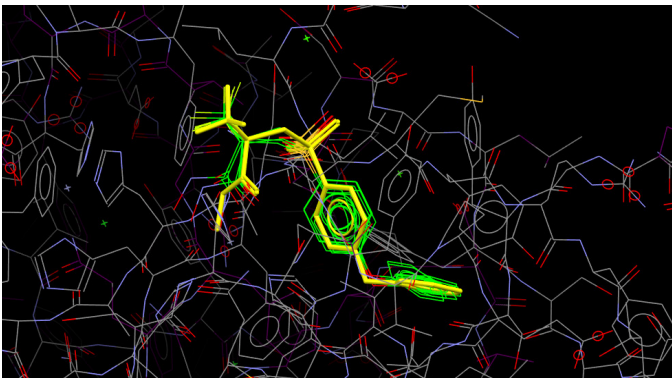


Figure 1. Result of redocking analysis with metalloproteinase-9 target (PDB: 2OW1) with its co-crystallized ligand ((2R)-2-amino-3,3,3-trifluoro-n-hydroxy-2-[(4-phenoxyphenyl)sulfonyl]methyl}propanamide). This analysis presented 7 poses with RMSD (Root-mean-square deviation) values less than 1Å.

The parameters used in the redocking analysis for the co-crystallized ligand of the MM-9 target were used for the molecular docking analysis with the caffeic acid ligand on this same target.

Molecular docking showed potential interaction between caffeic acid and ALA 189, LEU 188, PRO 421, TYR 420, MET 422 through hydrogen bonding, stronger bonds, and present ap-

appropriate distances between them. Therefore, these bonds could more strongly support the structure at the active site of MM-9. Furthermore, it also interacts with VAL 398 through a π -alkyl bond which is a bond with lower strength, and with HIS 401 through a π - π bond which is the bond between electrons of two aromatic rings as shown in Figures 2 and 3.

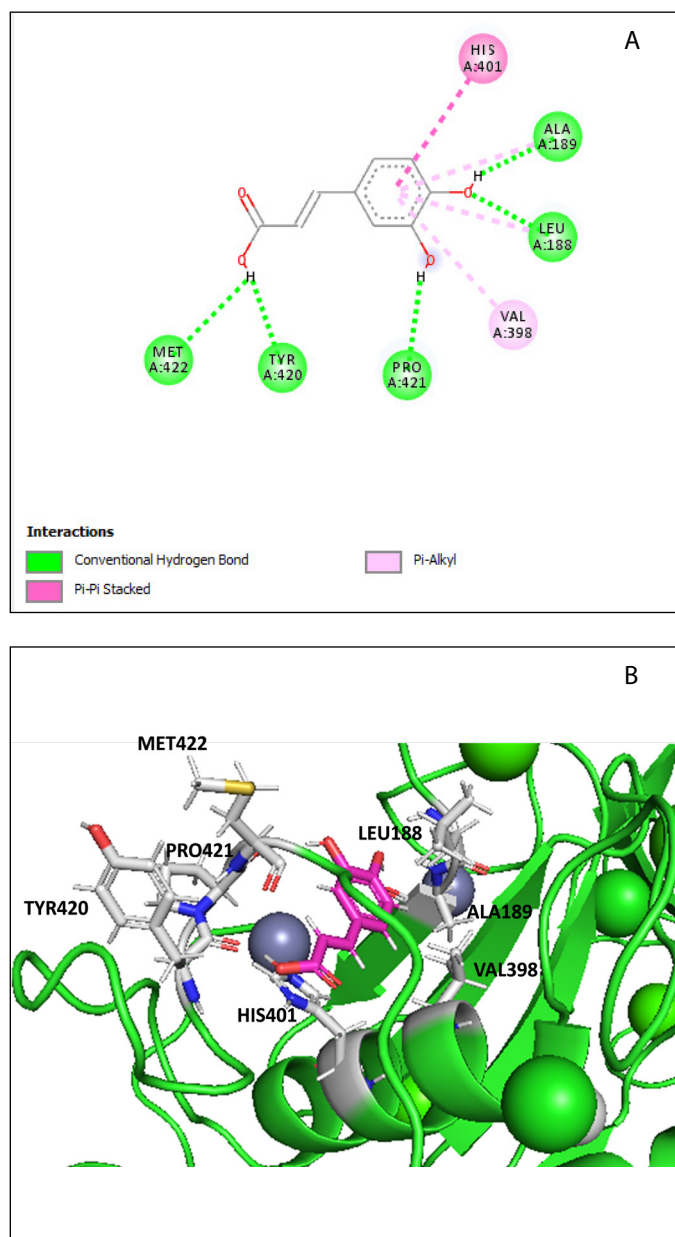


Figure 2. A. Two-dimensional representation of the potential interaction between caffeic acid and the active site of the MM-9 receptor. Five hydrogen bonds to caffeic acid are shown in green; a π -alkyl bond is shown in light pink, and a π - π bond is shown in dark pink. **B.** 3D representation of the interaction between caffeic acid and the active binding site of MM-9.

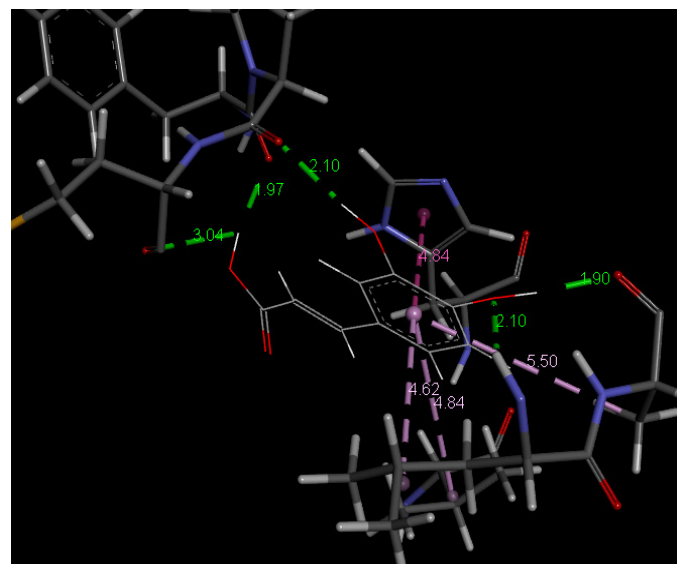


Figure 3. Representation of the interaction of caffeic acid with the active site of MM-9 with the respective distances of intermolecular interactions.

Pharmacophoric mapping allows interpreting the level of spatial similarity of the candidate structure with other binding molecules with known activities obtained from the Binding DB database. The analysis consists of four main steps, ligand representation (I), pair alignment (II), multiple alignments (III), and grouping and solution exit. This mapping revealed that the scopoletin molecule had alignment with the five most potent ligands that interact with the EGFR, as shown in Figure 4. Furthermore, scopoletin, a molecule also found in the plant species *A. annua*, shares two hydrogen bond donor groups and two aromatic groups with the 5 structures with the lowest IC₅₀ values capable of interacting with the epidermal growth factor receptor.

Scopoletin interacts with the EGFR receptor through cell surface receptors, proteins located in the plasma membrane. These receptors are activated by stimuli from the external environment, generating intracellular signals leading to multiple molecular cascades. The successive phosphorylation of substrates activates the transcription of genes involved in proliferation, differentiation, invasion, angiogenesis, metastasis, and resistance to cell apoptosis. The role of EGFR in carcinogenesis is related to the mechanisms that lead to increased proliferative activity, invasiveness, angiogenesis, and resistance to chemotherapy and radiotherapy, which are paracrine and autocrine stimulation in the tumor microenvironment through increased production of ligands, overexpression of EGFR molecules in the membrane of tumor cells and activating mutations of the EGFR gene^{9,14, 15}.

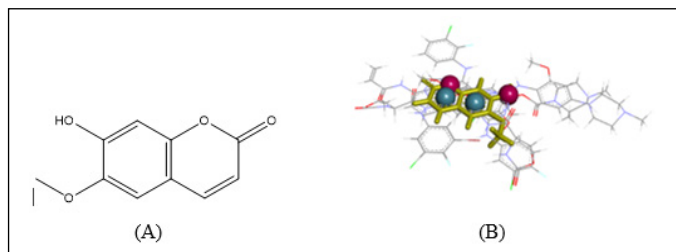


Figure. 4. A. Structure of scopoletin and adjustment of scopoletin to the EGFR antagonist pharmacophore. **B.** Pharmacophore features are color-coded for hydrogen bond donors (red) and aromatic rings (blue).

Conclusion

The compounds caffeic acid and scopoletin present in the *Artemisia annua* species were shown to be compounds with potential candidates for future tests in vitro and in vivo concerning antineoplastic activity. Furthermore, the results obtained here also point to two structures responsible for effects already identified in the *A. annua* extract. Thus, this study opens perspectives for targeted biological tests that explore the activities identified by the *in silico* tools.

References

1. Ribeiro AG, Baquero OS, Freitas CU d., Chiaravalotti Neto F, Cardoso MRA, Latorre M do RDO, et al. Incidence and mortality risk for respiratory tract cancer in the city of São Paulo, Brazil: Bayesian analysis of the association with traffic density. *Cancer Epidemiol* [Internet]. 2018;56(June):53–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.canep.2018.07.005>
2. Costa-Lotufo LV, Montenegro RC, Alves APNN, Madeira SVF, Pessoa C, Moraes MEA de, et al. The Contribution of Natural Products as Source of New Anticancer Drugs: Studies Carried Out at the National Experimental Oncology Laboratory from the Federal University of Ceará. *Rev Virtual Química*. 2010;2(1):47–58.
3. Efferth T. From ancient herb to modern drug: *Artemisia annua* and artemisinin for cancer therapy. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2017;46:65–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.02.009>
4. Trosset JY, Cavé C. In Silico Drug–Target Profiling. *Methods Mol Biol*. 2019;1953:89–103.
5. Tan BH, Pan Y, Dong AN, Ong CE. In vitro and in silico Approaches to Study Cytochrome P450-Mediated Interactions. *J Pharm Pharm Sci*. 2017;20(1):319–28.
6. Filimonov DA, Lagunin AA, Glorizova TA, Rudik A V,

Druzhilovskii DS, Pogodin P V., et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. *Chem Heterocycl Compd*. 2014;50(3):444–57.

7. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(March):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep42717>
8. Banerjee P, Dehnbostel FO, Preissner R. Prediction is a balancing act: Importance of sampling methods to balance sensitivity and specificity of predictive models based on imbalanced chemical data sets. *Front Chem*. 2018;6(AUG):1–11.
9. Schneidman-Duhovny D, Dror O, Inbar Y, Nussinov R, Wolfson HJ. PharmaGist: a webserver for ligand-based pharmacophore detection. *Nucleic Acids Res*. 2008;36(Web Server issue):223–8.
10. Poroikov V V. Computer-Aided Drug Design: from Discovery of Novel Pharmaceutical Agents to Systems Pharmacology. *Biochem Suppl Ser B Biomed Chem*. 2020;14(3):216–27.
11. Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(W1):W257–63.
12. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(W1):W357–3664.
13. Jorge SEDC, Kobayashi SS, Costa DB. Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in lung cancer: Preclinical and clinical data. *Brazilian J Med Biol Res*. 2014;47(11):929–39.
14. Tochowicz A, Maskos K, Huber R, Oltenfreiter R, Dive V, Yiotakis A, et al. Crystal Structures of MMP-9 Complexes with Five Inhibitors: Contribution of the Flexible Arg424 Side-chain to Selectivity. *J Mol Biol*. 2007;371(4):989–1006.
15. Lopes GL, Vattimo EFQ, Junior GC. Identifying activating mutations in the EGFR gene: Prognostic and therapeutic implications in non-small cell lung cancer | Identificação de mutações ativadoras no gene EGFR: Implicações no prognóstico e no tratamento do carcinoma pulmonar de células não p. *J Bras Pneumol*. 2015;41(4):365–75.

Prevalência de diabetes mellitus e hipertensão arterial em soldados do Batalhão de Infantaria da Aeronáutica Especial de Belém – BINFAE-BE

Prevalence of diabetes mellitus and arterial hypertension in soldiers of the Special Aeronautical Infantry Battalion of Belem - BINFAE-BE

Jéssica Máximo dos Santos¹, Luiz Carlos Santana da Silva¹

¹ Universidade Federal do Pará – UFPA

Resumo

A diabetes e a hipertensão multiplicam os fatores de risco para doença micro e macrovascular, resultando em aumento do risco para mortalidade em virtude de doenças cardiovasculares, doença coronariana, insuficiência cardíaca congestiva, doença cerebrovascular e doença vascular periférica. Em uma unidade militar, este tipo de estudo torna-se relevante, tendo em vista as características ocupacionais envolvidas na necessidade de promover o adestramento operacional de militares na execução de técnicas e táticas relacionadas às atividades de defesa das instalações militares. Tem por objetivo analisar a prevalência de diabetes mellitus e hipertensão arterial em soldados do Batalhão de Infantaria da Aeronáutica Especial de Belém – BINFAE-BE e avaliar a relação de seus riscos com a prontidão para a prática de atividades físicas. Elaborou-se o banco de dados no software SPSS Statistics, onde foram analisados os dados quantitativos. As variáveis de desempenho físico foram categorizadas conforme Instrução do Comando da Aeronáutica 54-1, de Teste de avaliação do Condicionamento Físico, em suficiência e insuficiência. Verificaram-se suas independências com as variáveis: índice de massa corporal, hipertensão arterial, exames laboratoriais, circunferência abdominal e treinamento físico diário, de acordo com as classificações do Ministério da Saúde, adotando-se um nível de significância de 5%. A prevalência de hipertensão arterial sistêmica foi de 4,1%. A prevalência de diabetes foi 0%, entretanto 6,8% dos sujeitos da pesquisa foram classificados como pré-diabéticos (tolerância diminuída à glicose). Ao analisar as variáveis categóricas, verificou-se que 37,2% dos soldados estão com sobrepeso e 6,8% estão com obesidade grau I. As atividades físicas sem hábitos alimentares saudáveis são insuficientes para protegerem os indivíduos das doenças crônicas não-transmissíveis. Além da prática de atividades físicas, os soldados necessitam aderir à alimentação saudável.

Palavras-Chave: Diabetes Mellitus; Hipertensão; Doenças Crônicas Não-Transmissíveis; Atividade Física.

Abstract

The diabetes mellitus and the hypertension multiply the risk factors for micro and macrovascular diseases, resulting in a growth in the mortality risk for cardiovascular diseases, coronary disease, congestive cardiac insufficiency, brain vasculature disease and peripheral vascular disease. In a military unit, this type of study becomes relevant, in view of the occupational characteristics involved in the need to promote the operational training of military personnel in the execution of techniques and tactics related to the defense activities of military installations. Aim to analyze the prevalence of diabetes mellitus and arterial hypertension in soldiers of the Special Aeronautical Infantry Battalion of Belém – BINFAE-BE and evaluate the relation of its risks with the aptitude for the practice of physical activities. It was elaborated a data bank in the SPSS software, where were analyzed the quantitative data. The variants of the physical performance were categorized in accord with the Aeronautic Command instruction 54-1, of evaluation test of the physical conditioning, in sufficiency and insufficiency. It was verified their dependences with the following variables: body mass index, arterial hypertension, labora-

Contato para correspondência:

Luiz Carlos Santana da Silva

E-mail:

lcsantana-pa@hotmail.com

Conflito de interesse:

Não

Financiamento: Universidade Federal do Pará – UFPA

Recebido: 28/10/2021

Aprovado: 29/11/2021



tory exams abdominal circumference and daily physical training, in accord with the classifications of the Heal Ministry, adopting a 5% level of significance. The prevalence of systemic arterial hypertension was 4.1%. The prevalence of diabetes was 0%. However, 6.8% of the research subjects were classified as pre-diabetic (decreased glucose tolerance). When analyzing categorical variables, it was found that 37.2% of soldiers are overweight and 6.8% are grade I obesity. Physical activities without healthy eating habits are insufficient to protect individuals from chronic non-communicable diseases. In addition to physical activity, soldiers need to adhere to healthy eating.

Keywords: *Diabetes Mellitus; Hypertension; Noncommunicable Chronic Diseases; Physical Activity.*

Introdução

A prevalência de diabetes *mellitus* e de hipertensão arterial se fez relevante, pois a unidade militar Batalhão de Infantaria da Aeronáutica Especial de Belém (BINFAE-BE) nunca esteve envolvida com um projeto específico de ocorrência destas duas doenças, além do que a hipertensão e a diabetes multiplicam os fatores de risco para doença micro e macrovascular, resultando em aumento do risco para mortalidade em virtude de doença cardiovascular, doença coronariana, insuficiência cardíaca congestiva, doença cerebrovascular e doença vascular periférica¹.

Complicações macrovasculares contribuem para a maioria das mortes em sujeitos da pesquisa diabéticos, estando a ausência de hipertensão associada com aumento da sobrevida².

Os fatores de risco para o diagnóstico de diabetes *mellitus* e hipertensão arterial agregados causam sérios danos à saúde e comprometem o desempenho dos militares. Importante destacar que níveis adequados de aptidão física e de atividade física têm sido indicados como fatores de proteção para inúmeras doenças e como promotores de qualidade de vida^{3,4}.

Estudo aponta que os níveis de aptidão cardiorrespiratória estão associados com adiposidade total e abdominal e os sistemas muscular e cardiorrespiratório são associados com os principais fatores de risco para doenças cardiovasculares⁵. É extremamente importante que os militares da ativa sejam saudáveis, estejam prontos para as atividades operacionais e ações de combate⁶.

Na pesquisa pioneira que motivou este trabalho, a amostra do perfil morfofuncional foi composta por 139 recrutas voluntários com idade entre 18-19 anos, em que variáveis antropométricas (peso corporal, estatura, índice de massa corporal, circunferências de braço, cintura e quadril, relação cintura/quadril, dobras cutâneas -tríceps, suprailíaca e abdominal- e percentual de gordura), além de testes de resistência abdominal, resistência de membros superiores e teste de corrida de 12 minutos foram avaliados⁷.

Em estudo transversal da Marinha do Brasil envolvendo 1.383 homens (18-62 anos) lotados nas organizações militares

da Grande Natal-RN, o critério utilizado para diagnóstico de Síndrome Metabólica foi o proposto pela *International Diabetes Association*. A razão entre a prevalência observada e a esperada e os respectivos intervalos de confiança foram utilizados para identificar as combinações de fatores de risco que excediam o esperado para a população⁸.

Um estudo epidemiológico descritivo-analítico, sobre a prevalência dos fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV) no policial militar, por meio de dados obtidos em suas fichas de inspeção de saúde preenchidas durante o ano de 2006, analisou aproximadamente 900 policiais⁹.

No ambiente do BINFAE-BE, algumas características ocupacionais como extensas jornadas de trabalho, ações de segurança e defesa das unidades aéreas desdobradas e de pontos sensíveis de interesse da Aeronáutica; e responsabilidades de execução e colaboração no planejamento, coordenação e supervisão das atividades de Infantaria na área da Guarnição de Aeronáutica de Belém podem influenciar o status de saúde dos indivíduos, devido a alimentação escassa em nutrientes. A união desses aspectos parece contribuir para mudanças negativas no estilo de vida dessa população¹⁰.

É plausível especular os fatores de riscos como hiperglicemia e a hipertensão arterial para doença micro e macrovascular, resultando em aumento do risco para mortalidade decorrente de doença cardiovascular, doença coronariana, insuficiência cardíaca congestiva, doença cerebrovascular e doença vascular periférica.

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi analisar a prevalência de diabetes *mellitus* e hipertensão arterial em soldados do Batalhão de Infantaria da Aeronáutica Especial de Belém – BINFAE-BE. Ademais, este trabalho também buscou avaliar a relação de seus riscos com a prontidão para a prática de atividades físicas.

Métodos

O estudo foi descritivo e documental. O método da pesquisa documental valeu-se de documentos originais, utilizando-se as fichas individuais do Teste de Avaliação de

Condicionamento Físico – TACF – e da inspeção em Junta Regular de Saúde (JRS) dos soldados pertencentes ao efetivo do BINFAE-BE.

A população do estudo foi composta por soldados desse batalhão. Os militares praticam atividades físicas regularmente e realizam TACF semestralmente.

Os soldados do efetivo são submetidos anualmente a exames médicos realizados pela JRS do Hospital de Aeronáutica de Belém (HABE) e realizam o TACF no BINFAE-BE.

Foram utilizadas 148 fichas do TACF dos soldados do BINFAE-BE. O teste foi aplicado, nos meses de março e abril, por militares capacitados com o Curso de Aplicador de Teste Físico (CATF) pertencentes ao efetivo da referida unidade militar.

Os dados adquiridos no exame laboratorial e no teste físico foram coletados pela pesquisadora no HABE e no BINFAE-BE. Foram incluídos no estudo todos os 148 soldados, que são sujeitos da pesquisa do sexo masculino, com idade entre 18 anos e 24 anos. Nenhum militar foi excluído do estudo, pois todos os avaliados realizaram as etapas do TACF e nenhum estava internado ou sendo atendido em caráter de urgência ou emergência no período de avaliação da JRS, por meio de exames laboratoriais e laudo médico.

Este estudo analisou os dados que foram obtidos mediante testes físicos e exames laboratoriais pertencentes à rotina militar. Não houve riscos físicos aos participantes, pois se tratou de testes físicos e exames laboratoriais pertencentes à rotina militar; e nem riscos morais, pois a identidade do paciente foi mantida em sigilo.

Em relação aos benefícios, o paciente recebeu o resultado do seu teste físico e, durante a consulta médica, aqueles que apresentaram alteração nos exames físicos e médicos receberam aconselhamento e orientação para a realização de tratamento.

No que se referem aos preceitos éticos, os Termos de Consentimento das Instituições envolvidas foram assinados pelos comandantes das Instituições Militares, informando que aceitaram participar da pesquisa e disponibilizaram os dados necessários para a sua conclusão.

Após a autorização do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto (CEPHUJBB), as fichas de inspeção de saúde e de teste de avaliação de condicionamento físico dos militares do BINFAE-BE, sob o domínio respectivo do HABE e da Seção de Educação Física do batalhão foram analisadas.

Os avaliados responderam a ficha individual de anamnese do TACF, contendo perguntas sobre sintomas de doenças cardiovasculares, em que todos alegaram não apresentar os problemas nela relacionados.

Após a realização do teste físico, as informações coletadas para a pesquisa foram treinamento diário em horas, percurso de corrida em 12 minutos, flexão e extensão dos membros superiores, flexão dos troncos sob as coxas em 1 minuto, circunferência abdominal, peso, altura e idade.

No mês de agosto, os soldados realizaram exames de saúde no HABE. Nessa triagem, exigência da Junta Regular de Saúde para analisar a saúde dos militares da Aeronáutica, eles realizaram os exames laboratoriais de glicemia em jejum, creatinina, ureia, tipagem sanguínea, VDRL e urina. Além de terem um profissional da área médica aferindo a pressão arterial, frequência cardíaca e Índice de Massa Corporal (IMC).

Foram analisadas as 148 fichas do Teste de Avaliação de Condicionamento Físico dos soldados do BINFAE-BE e as 148 pastas individuais da Inspeção de Saúde arquivadas na Junta Regular de Saúde para comporem a análise bioestatística.

Os dados observados foram apurados e depois elaborado o banco de dados no software SPSS Statistics (v. 20, IBM SPSS, Chicago IL). Foram calculadas as medidas de tendência central (média) e de variabilidade (desvio padrão) das variáveis quantitativas e medidas de frequências das variáveis categóricas.

As variáveis de desempenho físico foram categorizadas conforme Instrução do Comando da Aeronáutica (ICA 54-1)¹¹ em suficiência e insuficiência. E foram verificadas suas independências com as variáveis: índice de massa corporal, hipertensão arterial, exames laboratoriais, circunferência abdominal e treinamento físico diário. Estas variáveis também foram dicotomizadas conforme classificações de consenso de sociedades médicas brasileiras e adotadas pelo Ministério da Saúde.

O teste do *qui-quadrado* foi utilizado para medir as independências entre as variáveis supracitadas e foi adotado o nível de significância de 5%.

O estudo está de acordo com os princípios éticos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto da Universidade Federal do Pará, sob o número de CAAE: 67289416.4.0000.0017.

Resultados

Os resultados da prevalência de hipertensão arterial sistêmica sistólica foi de 4,1%. A prevalência de diabetes foi 0%, entretanto 6,8% dos sujeitos da pesquisa foram classificados como pré-diabéticos (tolerância diminuída à glicose) (Tabela 1).

Tabela 1. Prevalência das condições de Hipertensão Arterial Sistêmica e de Diabetes em soldados do BINFAE-BE. Belém-PA.

Condição	fa	%
Pressão arterial sistólica		
Normotensão (PASist≤120 e PAdiast≤80)	114	77,0
Pré-Hipertensão (121≤PASist≤139 e 81≤PAdiast≤89)	28	18,9
Hipertensão (PASist≥140 e PAdiast≥90)	6	4,1
Diabetes		
Glicemia normal (<100)	138	93,2
Tolerância a glicose diminuída (≥100 a <126)	10	6,8
Total	148	100,0

fa: frequência absoluta. %: frequência relativa em percentual. PASist: pressão arterial sistólica. PAdiast: pressão arterial diastólica.

Na Tabela 2 são encontrados os valores médios ± desvios-padrões das variáveis quantitativas. Os valores mínimos e máximos mostram que a maior e menor pressão arterial sistólica encontrada foi de 150 mmHg e 100 mmHg e, a maior e menor pressão arterial diastólica foi de 90 mmHg e 60 mmHg.

Tabela 2. Medidas de idade, pressão arterial, frequência cardíaca, exames laboratoriais, exames físicos e de testes físicos em soldados do BINFAE-BE. Belém-PA.

Medidas	Média	DP	Mínimo	Máximo
Idade em anos	21,0	0,6	18	24
Pressão arterial sistólica (mmHg)	117,8	10,2	100	150
Pressão arterial diastólica (mmHg)	75,0	6,9	60	90
Frequência cardíaca por minuto	72,8	4,9	60	90
Índice de Massa Corporal	24,7	3,4	18,4	37,1
Glicemia em jejum (mg/dL)	87,7	7,4	70	126
Creatinina (mg/dL)	1,1	0,2	0,70	2,1
Ureia (mg/dL)	28,9	6,9	15	66
Altura em centímetros	172,0	6,7	158	190
Peso em quilogramas	73,2	10,6	53	106
Circunferência abdominal em centímetros	77,6	7,9	57	99
Percentual de gordura peitoral	11,0	6,4	3	38
Percentual de gordura abdominal	19,4	10,5	5	50
Percentual de gordura da coxa	16,1	7,4	5	45

Corrida em 12 minutos medida em metros	2525,2	254,6	1920	3080
Flexões dos membros superiores por minuto	40,1	8,7	17	60
Flexões abdominais por minuto	45,4	8,1	0	65
Tempo de treinamento diário em minutos	66,3	14,9	0	120

DP: desvio padrão. mmHg: milímetros por mercúrio. mg/dL: miligrama por decilitro

Pode-se observar a classificação de flexões abdominais (Tabela 3) e flexões de membros superiores (Tabela 4) por minuto, corrida de 12 minutos (Tabela 5) e desempenho de exames físicos com relação à suficiência (Tabela 6) pelo padrão estabelecido pela Instrução do Comando da Aeronáutica (ICA) 54-1¹¹, de Teste de Avaliação do Condicionamento Físico.

Pode ser verificado que os valores de *p* foram sempre maiores que 0,05 (5%). Isto representa que nenhuma das variáveis observadas foi associada ao desempenho de flexões abdominais. Isto aconteceu também nas demais tabelas, onde se avalia o desempenho das flexões de braços superiores e da corrida em 12 minutos.

Tabela 3. Classificação de flexões abdominais por minuto pelo pela Instrução do Comando da Aeronáutica (ICA) 54-1¹¹, de Teste de Avaliação do Condicionamento Físico segundo classificação do Índice de Massa Corporal, da hipertensão arterial sistêmica, dos exames laboratoriais, da circunferência abdominal e do tempo diário de treinamento físico em soldados do BINFAE-BE. Belém-PA.

Variáveis	Flexões Abdominais							
	Apto (≥30/min.)		Inapto (<30/min.)		Total			
	fa	%	Fa	%	fa	%	p	
Classificação segundo Índice de Massa Corporal								
Baixo Peso (IMC<18.5)	1	0,7	0	0,0	1	0,7	0,614	
Peso normal (18.5≤IMC≤24.9)	81	56,2	1	25,0	82	55,4		
Sobrepeso (25.0≤IMC≤29.9)	54	37,5	1	25,0	55	37,2		
Obesidade grau I (30.0≤IMC≤34.9)	8	5,6	2	50,0	10	6,8		
Classificação segundo HAS								
Hipertensão	7	4,9	0	0,0	7	4,7	0,651	
Normotensão / Pré-Hipertensão	137	95,1	4	100,0	141	95,3		
Classificação segundo valores de Glicemia								
Glicemia normal (<100)	134	93,1	4	100,0	138	93,2	1,000	
Tolerância a glicose diminuída (≥100 a <126)	10	6,9	0	0,0	10	6,8		

Classificação segundo valores de Creatinina							
Normal (0,50 a 1,50 mg/dL)	142	98,6	4	100,0	146	98,6	1,000
Alterada (>1,50 mg/dL)	2	1,4	0	0,0	2	1,4	
Classificação segundo valores de Ureia							
Normal (10 a 45 mg/dL)	143	99,3	4	100,0	147	99,3	1,000
Alterada (>45 mg/dL)	1	0,7	0	0,0	1	0,7	
Classificação segundo circunferência abdominal							
Normal	140	97,2	3	75,0	143	96,6	0,130
Risco cardiovascular	4	2,8	1	25,0	5	3,4	
Tempo de treinamento físico diário							
>60 minutos	32	22,2	2	50,0	34	23,0	0,226
≤60 minutos	112	77,8	2	50,0	114	77,0	

fa: frequência absoluta. %: frequência relativa em percentual. p: valor-p (probabilidade de observação do valor estatístico do teste do qui-quadrado). IMC: Índice de Massa Corporal. HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica.

Adicionalmente, pode ser verificada na coluna “total” a estatística descritiva das variáveis qualitativas/categóricas. Em que, 37,2% dos soldados estão com sobrepeso e 6,8 estão obesos (obesidade grau I).

Tabela 4. Classificação de flexões de membros superiores por minuto pelo padrão da Instrução do Comando da Aeronáutica (ICA) 54-1¹¹, de Teste de Avaliação do Condicionamento Físico, segundo classificação do Índice de Massa Corporal, da hipertensão arterial sistêmica, dos exames laboratoriais, da circunferência abdominal e do tempo diário de treinamento físico em soldados do BINFAE-BE. Belém-PA.

Variáveis	Flexões de Membros Sup.						
	Apto (≥18/ min.)		Inapto (<18/min.)		Total		
	fa	%	Fa	%	fa	%	p
Classificação segundo Índice de Massa Corporal							
Baixo Peso (IMC<18.5)	1	0,7	0	0,0	1	0,7	0,979
Peso normal (18.5≤IMC≤24.9)	82	55,8	0	0,0	82	55,4	
Sobrepeso (25.0≤IMC≤29.9)	54	36,7	1	100,0	55	37,2	
Obesidade grau I (30.0≤IMC≤34.9)	10	6,8	0	0,0	10	6,8	
Classificação segundo HAS							
Hipertensão	7	4,8	0	0,0	7	4,7	0,823
Normotensão / Pré- -Hipertensão	140	95,2	1	100,0	141	95,3	
Classificação segundo valores de Glicemia							

Glicemia normal (<100)	137	93,2	1	100,0	138	93,2	1,000
Tolerância a glicose diminuída (≥100 a <126)	10	6,8	0	0,0	10	6,8	
Classificação segundo valores de Creatinina							
Normal (0,50 a 1,50 mg/dL)	145	98,6	1	100,0	146	98,6	1,000
Alterada (>1,50 mg/dL)	2	1,4	0	0,0	2	1,4	
Classificação segundo valores de Ureia							
Normal (10 a 45 mg/dL)	146	99,3	1	100,0	147	99,3	1,000
Alterada (>45 mg/dL)	1	0,7	0	0,0	1	0,7	
Classificação segundo circunferência abdominal							
Normal	142	96,6	1	100,0	143	96,6	1,000
Risco cardiovascular	5	3,4	0	0,0	5	3,4	
Tempo de treinamento físico diário							
>60 minutos	33	22,4	1	100,0	34	23,0	0,230
≤60 minutos	114	77,6	0	0,0	114	77,0	

fa: frequência absoluta. %: frequência relativa em percentual. p: valor-p (probabilidade de observação do valor estatístico do teste do qui-quadrado). IMC: Índice de Massa Corporal. HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica.

Tabela 5. Classificação do desempenho na corrida de 12 minutos pelo padrão estabelecido da Instrução do Comando da Aeronáutica (ICA) 54-1¹¹, de Teste de Avaliação do Condicionamento Físico, segundo classificação do Índice de Massa Corporal, da hipertensão arterial sistêmica, dos exames laboratoriais, da circunferência abdominal e do tempo diário de treinamento físico em soldados do BINFAE-BE. Belém-PA.

Variáveis	Corrida em 12 minutos						
	Apto (≥2080m)		Inapto (<2080m)		Total		p
	fa	%	Fa	%	fa	%	
Classificação segundo Índice de Massa Corporal							
Baixo Peso (IMC<18.5)	1	0,7	0	0,0	1	0,7	0,571
Peso normal (18.5≤IMC≤24.9)	81	56,6	1	20,0	82	55,4	
Sobrepeso (25.0≤IMC≤29.9)	53	37,1	2	40,0	55	37,2	
Obesidade grau I (30.0≤IMC≤34.9)	8	5,6	2	40,0	10	6,8	
Classificação segundo HAS							
Hipertensão	7	4,9	0	0,0	7	4,7	0,612
Normotensão / Pré- Hipertensão	136	95,1	5	100,0	141	95,3	
Classificação segundo valores de Glicemia							
Glicemia normal (<100)	134	93,7	4	80,0	138	93,2	0,297

Tolerância a glicose diminuída (≥ 100 a < 126)	9	6,3	1	20,0	10	6,8	
Classificação segundo valores de Creatinina							
Normal (0,50 a 1,50 mg/dL)	141	98,6	5	100,0	146	98,6	1,000
Alterada ($> 1,50$ mg/dL)	2	1,4	0	0,0	2	1,4	
Classificação segundo valores de Ureia							
Normal (10 a 45 mg/dL)	142	99,3	5	100,0	147	99,3	1,000
Alterada (> 45 mg/dL)	1	0,7	0	0,0	1	0,7	
Classificação segundo circunferência abdominal							
Normal	138	96,5	5	100,0	143	96,6	1,000
Risco cardiovascular	5	3,5	0	0,0	5	3,4	
Tempo de treinamento físico diário							
> 60 minutos	31	21,7	3	60,0	34	23,0	0,080
≤ 60 minutos	112	78,3	2	40,0	114	77,0	

fa: frequência absoluta. %: frequência relativa em percentual. p: valor-p (probabilidade de observação do valor estatístico do teste do qui-quadrado). IMC: Índice de Massa Corporal. HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica.

Tabela 6. Classificação do desempenho de exames físicos pelo padrão da Instrução do Comando da Aeronáutica (ICA) 54-111, de Teste de Avaliação do Condicionamento Físico, em soldados do BINFAE-BE. Belém-PA.

Exame físico	fa	%
Avaliação das flexões abdominais		
Apto (≥ 30 por minuto)	143	96,6
Inapto (< 30 por minuto)	5	3,4
Avaliação das flexões de membros superiores		
Apto (≥ 18 por minuto)	147	99,3
Inapto (< 18 por minuto)	1	0,7
Avaliação da corrida de 12 minutos		
Apto (≥ 2080 m)	144	97,3
Inapto (< 2080 m)	4	2,7
Total	148	100,0

Discussão

Uma análise realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) concluiu que uma das formas mais efetivas de estimular naturalmente a atividade física é através de políticas de transporte e planejamento urbano. Esforços e estratégias por cidades mais ativas serão cada vez mais necessários uma vez que a inatividade física já é um dos grandes problemas da saúde pública global¹².

Para os indivíduos de carreira militar, é necessário que seu efetivo tenha estado de saúde adequado ao desempenho de missões em tempos de paz ou guerra, podendo levar o indivíduo à extrapolação de suas condições físicas. Dá-se importância à regularidade da prática de atividades físicas, capazes de reduzir, prevenir e controlar o risco e o acometimento das doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT) em geral, também promovendo melhor qualidade de vida¹³⁻¹⁵.

Apesar do estereótipo de que a população militar mantém hábitos alimentares e estilos de vida saudáveis, junto à prática de atividades físicas, estes indivíduos acabam por se enquadrar em um grupo de quebra desta rotulação, visto que vários estudos os relacionam aos fatores de risco de DCNT¹⁵.

Os resultados encontrados, na pesquisa intitulada Avaliação do perfil morfofuncional de recrutas ingressantes em uma unidade militar da Força Aérea Brasileira, evidenciam que o perfil físico dos recrutas são similares em comparação a média da população brasileira, confirmando a hipótese inicial do estudo¹⁶. De forma geral, os sujeitos apresentaram boa condição morfológica, razoável índice de resistência abdominal, flexão de membros superiores e aptidão cardiorrespiratória. No Brasil, a prevalência populacional de sobrepeso e obesidade na população adulta está em torno de 62,5% para os homens.

Para corroborar com a nossa pesquisa, vale mencionar os resultados da análise morfofuncional dos 139 recrutas em uma unidade da Força Aérea Brasileira em que, 75,54% são classificados como eutróficos de acordo com o IMC. Entretanto, considera-se preocupante que 9,35% da amostra tenha baixo peso e 15,1% apresentarem excesso de peso. Importante destacar que o excesso de gordura corporal está frequentemente associado a algumas alterações metabólicas e doenças crônicas, como por exemplo, diabetes, hipertensão e dislipidemias¹⁷.

O estudo de combinação de fatores de risco relacionados à síndrome metabólica em militares da Marinha do Brasil detectou como fator de risco mais prevalente na população o baixo nível de HDL-colesterol, que esteve presente em 43% dos indivíduos. Aproximadamente 35% dos militares apresentaram obesidade abdominal. Em seguida, PA elevada, hipertrigliceridemia e glicemia de jejum maior ou igual a 100 mg/dL foram os fatores de risco mais prevalentes. A prevalência de Síndrome Metabólica foi de 17,6%, com aproximadamente um terço dos militares apresentando dois ou mais fatores de risco para tal enfermidade⁸.

Em trabalho semelhante ao presente estudo, Calamita, Silva Filho e Capputti⁹, verificaram que dos 912 policiais, entre 23 e 56 anos, 5,3% eram hipertensos, 50% dos policiais estavam na faixa do sobrepeso e 18% eram obesos; portanto, 68% dos

policiais estavam com o peso acima do desejado. Quando analisado o peso em função da faixa etária, observou-se que 62% dos policiais com idade abaixo de 35 anos estavam com o peso acima do adequado, enquanto dentre aqueles com 35 anos ou mais, esta prevalência foi de 72%. O excesso de peso (sobrepeso somado à obesidade) foi constatado em 68% dos policiais, aproximando-se do observado em estudos populacionais americanos (65,1%)¹⁸; porém, quando é analisada especificamente a prevalência da obesidade (encontrada em 18% dos policiais), ela estaria bem abaixo da observada na população americana, que foi de 30,4%.

Os adultos jovens, por estarem situados em uma fase de vida focada na busca por estabilidade profissional e nas relações pessoais, compõem uma população vulnerável a comportamentos de risco, como o consumismo e sedentarismo, modulados pela indústria de consumo e lazer, que interfere diretamente no autocuidado deste grupo¹⁹.

Diversos fatores de risco biológico (por exemplo, pressão arterial elevada e obesidade abdominal)^{20,21} e comportamentais (como tabagismo e sedentarismo)^{22,23} estão associados ao desenvolvimento de DCNT. Embora os fatores de risco, isoladamente, tenham impacto específico na saúde, com muita frequência encontram-se agregados nos indivíduos. Nesse sentido, o padrão de combinação desses fatores de risco tem sido alvo de investigações²⁴.

A pesquisa tem sua aplicabilidade uma vez que esta unidade militar ficou envolvida com um projeto específico de prevalência destas duas doenças, além do que a ocorrência de diabetes e hipertensão multiplica os fatores de risco para doença micro e macrovascular, resultando em aumento do risco para mortalidade cardiovascular, doença coronariana, insuficiência cardíaca congestiva, doença cerebrovascular e doença vascular periférica¹.

Foi imprescindível a intervenção de uma equipe de saúde, composta por médicos da Junta Regular de Saúde, cujo objetivo foi analisar o resultado dos exames realizados, e nos casos com alteração estes profissionais da saúde deram orientações de cuidados paliativos, para que o paciente entendesse a causa e mudasse o seu estilo de vida, evitando alguns tipos de alimentos e aderindo a uma vida mais saudável, através da exclusão do sedentarismo e da introdução de uma alimentação nutritiva.

A prontidão para a prática de atividades físicas pode ter sido causa para a ausência de diabetes nesta pesquisa, porém o sobrepeso, se não reduzido, pode levar o paciente a desenvolver doenças cardiovasculares.

Por se tratarem de doenças multifatoriais, esse tipo de levantamento de dados foi fundamental para a melhoria da terapêutica, servindo de base ao prescritor mediante o acesso aos exames laboratoriais realizados no HABE.

Sugere-se um guia de educação alimentar e nutricional para a melhora significativa dos hábitos alimentares dos soldados, contendo informações didáticas capazes de sobrelevar os fatores de risco e os fatores de proteção das doenças crônicas não-transmissíveis. Com vistas à promoção da saúde, a diminuição do excesso de peso, além da prevenção dos fatores de risco avaliados.

Conclusão

Em uma unidade militar como o BINFAE-BE, esse tipo de estudo torna-se relevante, tendo em vista as características ocupacionais envolvidas na necessidade de promover o adestramento operacional de militares na execução de técnicas e táticas relacionadas às atividades de defesa das instalações militares.

Os resultados encontrados mostram a prevalência de 6,8% de pré-diabéticos (tolerância diminuída à glicose), de 4,1% de hipertensão arterial sistêmica, de 37,2% com sobrepeso e de 6,8% com obesidade grau I, portanto ressalta-se que a prática de atividades físicas sem hábitos alimentares saudáveis é insuficiente para a proteção dos indivíduos às doenças crônicas não-transmissíveis.

Dessa forma, faz-se necessária a adesão dos soldados à alimentação saudável por intermédio de instruções educativas organizadas pelos superiores hierárquicos, a fim de orientá-los com eficiência.

Nesse estudo, pode-se observar que os fatores de proteção para as doenças crônicas não-transmissíveis, diabetes e hipertensão, caminham juntos. Não basta ser ativo fisicamente e não manter hábitos alimentares saudáveis. A prontidão para a prática de atividades físicas pode ter sido causa para a ausência de diabetes nesta pesquisa; porém o sobrepeso, se não reduzido, pode levar o paciente a desenvolver doenças cardiovasculares.

Ao considerar que a Força Aérea Brasileira tem como missão "Manter a soberania do Espaço Aéreo e integrar o Território Nacional, com vistas à defesa da Pátria", a fim de contribuir para essa defesa, o estudo foi relevante e trouxe benefícios para a Unidade Militar - BINFAE-BE.

Referências

1. Epstein M, Sowers JR. Diabetes mellitus and hypertension. *Hypertension*. 1992;19:403-18.
2. Borch-Johnson K, Nissen R, Nerup J. Blood pressure after 40 years of insulin-dependent diabetes. *Nephron*. 1985;4:11-2.
3. Fulton JE, Garg M, Galuska DA, Rattay KT, Caspersen CJ. Public health and clinical recommendations for physical activity and physical fitness: special focus

- on overweight youth. *Sports Med.* 2004;34(9):581-99.
4. Rocha CRGS, Freitas CR, Comerlato M. Relação entre nível de atividade física e desempenho no teste de avaliação física de militares. *Revista de Educação Física.* 2008;142(3):19-27.
5. Ortega FB, Ruiz JR, Castillo MJ, Sjöström M. Physical fitness in childhood and adolescence: a powerful marker of health. *International Journal of Obesity.* 2008;32(1):1-11.
6. Muniz GR, Bastos FIPM. Prevalência de obesidade em militares da força aérea brasileira e suas implicações na medicina aeroespacial. *R. EducTecnApl Aeron.* 2010;2(1):25-36.
7. Campos LCB, Campos FAD, Bezerra TAR, Pellegrinotti IL. Avaliação do perfil morfofuncional de recrutas ingressantes em uma unidade militar da força aérea brasileira. *Cinergis.* 2016;17(2):91-95.
8. Costa FF, Montenegro VB, Lopes TJA, Costa EC. Combinação de fatores de risco relacionados à síndrome metabólica em militares da marinha do Brasil. *Arq Bras Cardiol.* 2011;97(6):485-92.
9. Calamita Z, Silva Filho CR, Capputti PF. Fatores de risco para doenças cardiovasculares no policial militar. *Revista Bras. Med. Trab.* 2010;8(1):39-45.
10. Dalager NA, Kang HK. Mortality among army chemical corps Vietnam veterans. *Am J Ind Med.* 1997;31(6):719-26.
11. Brasil. Comando da Aeronáutica. Comissão de Desportos da Aeronáutica. Teste de Avaliação do Condicionamento Físico no Comando da Aeronáutica: ICA 54-1. Rio de Janeiro, 2011.
12. Tanscheit P. O transporte ativo combate a falta de atividade física e melhora o bem-estar nas cidades. [acesso em 27 mar 2020]. Disponível em: <https://wribrasil.org.br/pt/blog/2019/07/o-transporte-ativo-como-meio-de-combate-a-falta-de-atividade-fisica>.
13. Ferreira DKS, Bonfim C, Augusto LGS. Fatores associados ao estilo de vida de policiais militares. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2011;16(8):3403-3412.
14. Bingham CML, Lahti-Koski M, Puukka P, Kinnunen M, Jallinoja P, Absetz P. Effects of a healthy food supply intervention in a military setting: positive changes in cereal, fat and sugar containing foods. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2012;9(91):1-11.
15. Hilgenberg FE. Prevalência de fatores de risco cardiovasculares em cadets da Academia da Força Aérea Brasileira. Goiânia. Dissertação [Mestrado em Nutrição e Saúde] – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás; 2013.
16. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: despesas, rendimentos e condições de vida. Rio de Janeiro: IBGE; 2010. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/pof/2008_2009/default.shtm.
17. Rezende FAC, Rosado, LEFPL, Priore SE, Franceschini SDCC. Aplicabilidade de equações na avaliação da composição corporal da população brasileira. *Rev. Nutr.* 2006;19(3):357-67.
18. American Heart Association; American Stroke Association [internet]. *Heartdiseasesandstrokestatistics:2006*. Disponível em: <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/short/113/6/e85>.
19. Barreto SM, Passos VMAP, Giatti L. Comportamento saudável entre adultos jovens no Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2009;43(Supl 2):9-17.
20. Williams B. The year in hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(18):1803-17.
21. Zhang C, Rexrode KM, Dam RM, Li TY, Hu FB. Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: sixteen years of follow-up in US women. *Circulation.* 2008;117(13):1658-67.
22. Lipton R, Cunradi C, Chen MJ. Smoking and all-cause mortality among a cohort of urban transit operators. *J Urban Health.* 2008;85(5):759-65.
23. Lollgen H, Bockenhoff A, Knapp G. Physical activity and all-cause mortality: an updated meta-analysis with different intensity categories. *Int J Sports Med.* 2009;30(3):213-24.
24. Schuit AJ, Loon AJ, Tijhuis M, Ocke M. Clustering of lifestyle risk factors in a general adult population. *Prev Med.* 2002;35(3):219-24.

Saúde bucal de crianças com trissomia do cromossomo 21

Oral health in children with chromosomal trisomy 21

Heloyza Melo de Freitas¹, Renato Canevari Dutra da Silva¹, Ana Paula Felix Arantes¹, Marcos Marcondes de Godoy¹

¹ Universidade de Rio Verde – UniRV

Resumo

A trissomia do cromossomo 21, também conhecida popularmente como Síndrome de Down, é uma alteração genética que gera alterações físicas e congênitas, através de uma modificação no cromossomo número 21, a qual pode ocasionar diversas alterações orais e físicas no paciente. Devido a estas alterações, os portadores desta trissomia necessitam de tratamento e avaliação odontológicos especializados além de diagnóstico precoce. Este estudo possuiu como objetivo realizar, por meio de revisão de literatura narrativa, uma pesquisa sobre o atendimento odontológico a portadores da trissomia do cromossomo 21 e suas principais alterações bucais. Os resultados demonstraram que os portadores da síndrome possuem diversas alterações relacionadas ao sistema estomatognático, tais como anodontias, respiração bucal, língua fissurada, atraso e modificação da sequência de erupção dos dentes, geminação, incisivos centrais em meia lua, fusão de dentes, comprometimento da articulação temporomandibular. O referencial consultado revelou que o atendimento precoce, desde o primeiro mês de vida, com abordagem preventiva pode refletir em melhora das condições de saúde bucal deste grupo de pacientes.

Palavras-Chave: Saúde bucal. Odontopediatria. Trissomia do cromossomo 21.

Abstract

Chromosome 21 trisomy, also popularly known as Down syndrome, is a genetic alteration that causes physical and congenital alterations, through a modification in chromosome number 21, which can cause several oral and physical alterations in the patient. Due to these changes, patients with this trisomy need specialized dental treatment and evaluation, in addition to early diagnosis. This study aimed to carry out, through a review of narrative literature, a research on dental care for patients with trisomy 21 and its main oral alterations. The results showed that patients with the syndrome have several changes related to the stomatognathic system, such as anodontia, mouth breathing, fissured tongue, delay, and modification of the teeth eruption sequence, gemination, crescent-shaped central incisors, teeth fusion, impairment of the teeth. ear-jaw articulation. The reference consulted revealed that early care, from the first month of life, with a preventive approach, may reflect an improvement in the oral health conditions of this group of patients.

Keywords: Oral health. Pediatric dentistry. Trisomy 21.

Contato para correspondência:

Ana Paula Felix Arantes

E-mail:

ana_paula_arantes@hotmail.com

Conflito de interesse:

Não

Financiamento:

Recursos próprios

Recebido:

31/10/2021

Aprovado:

07/12/2021



Introdução

A trissomia do cromossomo 21 é considerada uma alteração genética que altera a vida do portador no seu desenvolvimento, ocasionando algumas alterações físicas e cognitivas. Essa anomalia está relacionada a modificação no número de cromossomos do par 21, em razão de um erro na separação em uma das células dos pais, causando a presença de um cromossomo extra¹.

Os portadores da trissomia do cromossomo 21 apresentam características tanto físicas, quanto orais, como exemplo: baixa estatura, anodontias, respiração bucal, língua fissurada, atraso e modificação da sequência de erupção dos dentes, geminação, incisivos centrais em meia lua, fusão de dentes, comprometimento da articulação temporomandibular².

As doenças bucais e malformações orofaciais são considerados de teor para acarretar risco de morte, e com isso, os pacientes mais propensos a esses tipos de problemas devem receber uma atenção especial para diagnóstico e tratamento precoce³.

A taxa de atendimento a pacientes especiais em consultórios odontológicos atualmente é baixo, em razão da falta de informação e comprometimento dos cirurgiões dentistas, em decorrência da ausência de contato com estes pacientes durante sua formação. O conhecimento das lesões e problemas ocasionados nesses pacientes devido a síndrome, também é considerado insuficiente, ocasionando assim um déficit na saúde oral deste grupo de pacientes⁴.

Com base neste contexto, este trabalho tem como objetivo apresentar as alterações bucais provocadas pela trissomia do cromossomo 21 e analisar a atuação do cirurgião dentista frente aos cuidados que devem ser tomados nos portadores da trissomia.

Métodos

Esta revisão bibliográfica narrativa foi realizada a partir da síntese de artigos científicos sobre a temática da saúde bucal em pacientes portadores de Trissomia do Cromossomo 21. Primeiramente foi realizado o levantamento bibliográfico, o qual foi feito através da busca nas seguintes bases de dados: Scientific Eletronic Library On-Line (SciELO), Google Acadêmico e PubMed. Foram utilizados os descritores em saúde: "saúde bucal", "assistência odontológica" e "trissomia do cromossomo 21", combinados entre si pelo operador Booleano "AND".

Foram incluídos estudos clínicos que relataram tratamentos odontológicos em pacientes com trissomia do cromossomo 21, bem como ensaios clínicos randomizados, relatos de caso e livros-texto envolvendo esse tema, publicados entre os anos 1990 a 2020. Foram excluídos artigos que não apresentaram

relevância clínica sobre o tema abordado, estudos repetidos, trabalhos de conclusão de cursos, bem como dissertações de mestrado e teses de doutorado, além dos estudos com metodologia incompletas e resultados inconclusivos. Após a leitura crítica de títulos e resumos, foram selecionados 33 estudos (Figura 1).

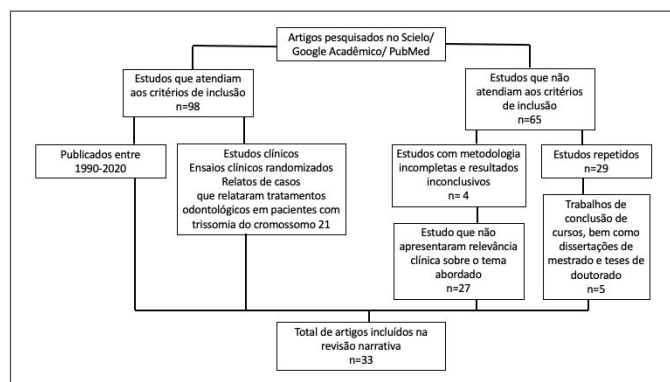


Figura 1. Fluxograma para a busca de artigos científicos.

Resultados

Características da trissomia do cromossomo 21

A trissomia do cromossomo 21 é uma alteração genética que possui influência na vida do portador devido a afetar seu desenvolvimento, determinando algumas características físicas e cognitivas. Também conhecida como Síndrome de Down, é considerada a anomalia genética mais comum. Essa anomalia ocorre com relação a alteração do número de cromossomos do par 21, em razão a um erro na separação destes em uma das células dos pais, criando a presença de um cromossomo extra¹.

Mães em estágio avançado de idade possuem um risco elevado de terem filhos com trissomia do cromossomo 21, devido ao envelhecimento dos ovócitos, que pode provocar a destruição das fibras cromossômicas ou a deterioração do centrômero. Algumas pesquisas demonstram que a idade paterna também pode ser considerado um fator contribuinte⁵.

É realizado o diagnóstico da trissomia através da observação de sinais e sintomas e com a confirmação por um exame com estudo cromossômico (cariótipo), que consegue detectar um cromossomo 21 extra. Vale destacar que não se trata de uma doença, mas de uma condição inerente aquele indivíduo portador dessa anomalia, com isso, não se pode falar em cura ou tratamento, e sim no controle das condições sistêmicas e locais do indivíduo⁶.

Os portadores da trissomia normalmente apresentam um desenvolvimento facial diferente em relação a hipotonia mus-

cular, que acomete inclusivamente o sistema estomatognático, a hiperflexibilidade de todo o corpo e apresentam um envelhecimento precoce. Os portadores da síndrome normalmente apresentam um volume cerebral menor, incluindo reduções no córtex parietal e no lobo temporal⁷.

Em relação aos aspectos cognitivos, a característica mais presente nos portadores da trissomia é a deficiência mental, que varia de indivíduo para indivíduo⁸ e as alterações neurológicas nesses indivíduos acabam acarretando em um déficit de atenção⁹.

De forma clínica, pode-se notar uma dismorfia craniofacial e braquicefalia, fazendo com que a cabeça seja desproporcionalmente grande, o rosto se apresenta tipicamente hipotônico a língua fica visível e a boca permanece aberta, a face normalmente é achatada, o pescoço curto e achatado, e a estatura baixa, porém as mãos e pés pequenos e largos^{6,10}.

Em relação as características presentes na cavidade bucal, os pacientes costumam apresentar: língua fissurada, anodontias, respiração bucal, micrognatia, atraso e modificação da sequência de erupção dentária, hipotonia com tendência a protuir a língua e permanecer de boca aberta, baixa prevalência de cárie, hipodontia, fissura nos cantos dos lábios, geminação, fusão de dentes, comprometimento da articulação temporomandibular, implantação irregular dos dentes e incisivos em meia lua¹. Porém, nem todos os portadores desta síndrome possuem estes fenótipos, sendo a deficiência mental a única característica presente em todos os casos. Com o diagnóstico e identificação do portador já no nascimento, aumenta os níveis de intervenção precoce auxilia todos os familiares envolvidos¹¹.

O indivíduo portador da trissomia do cromossomo 21, além da possibilidade de apresentar as manifestações orais citadas, pode ainda ter um comprometimento do desenvolvimento da linguagem, apresentando-se mais lenta, e com isso, a criança acometida acaba possuindo atrasos no desenvolvimento neuropsicomotor¹².

A incidência da síndrome é cerca de 1 (um) caso a cada 600 a 700 nascidos vivos, possuindo um maior índice nas mães com idade superior a 30 anos¹³. Os pacientes possuem uma expectativa de vida entre 35 a 40 anos, sendo válido observar que esse indicador vem aumentando em decorrência da melhora da assistência à saúde¹⁴.

Aspectos bucais e implicações odontológicas

São diversas manifestações bucais presentes em pacientes da trissomia do cromossomo 21, incluindo: mandíbula e cavidade bucal pequenas, palato estreito, alto e ogival e língua que se apresenta frequentemente fissurada e grande, podendo

manifestar glossite migratória benigna (língua geográfica)¹¹.

A postura da língua aberta é comum em razão de uma nasofaringe estreita, bem como tonsilas e adenóide hipertrofiada. Devido a protusão da língua e a respiração bucal frequentes, ocorre a secura e fissura dos lábios. Podemos observar a presença de queilite angular nas comissuras labiais por causa da dificuldade do indivíduo em fechar a boca. Este movimento da língua pode acarretar também o deslocamento dos dentes e a má oclusão¹⁵.

O fato dos portadores da síndrome serem na maioria das vezes respiradores bucais, há um favorecimento no aparecimento de periodontite crônica e de infecções do trato respiratório. Como eles permanecem nesses casos com a boca aberta, babam frequentemente e o lábio inferior se apresenta gretado, podendo assim ocorrer fissuras nos lábios¹⁰.

Anomalias características e doenças periodontais são prevalentes nessa síndrome. Dentre as anomalias dentais que podem ser associadas a pacientes com trissomia do cromossomo 21, as mais frequentes são: oligodontia, hipodontia, fusão, microdontia e taurodontia. Anomalias dentárias de desenvolvimento, como malformações coronárias e radiculares também se apresentam comuns. Variações morfométricas ligadas aos segundos molares decíduos são encontradas facilmente nos portadores da síndrome¹⁶.

Ocorrem também os casos de desarmonias oclusais, mordidas cruzadas posteriores, apinhamento pronunciado dos dentes e apertognatia nos portadores da trissomia do cromossomo 21¹⁷. A relação do alto índice de má oclusão pode ser relacionado com frequentes alterações na arcada superior, mais precisamente na região de incisivos e caninos, característica a qual ocorre pelo fato do arco maxilar apresentar-se pequeno e ogival, relacionado à macroglossia e outros aspectos etiológicos exógenos¹⁸.

Os portadores de trissomia do cromossomo 21 possuem muita das vezes um atraso na erupção dental, normalmente ocorrendo aos 6 meses e presente tanto na dentição decídua quanto na permanente e possuem um fluxo salivar em média 50% menor do que o normal, sendo associado ao metabolismo da glândula parótida. Além de que o pH salivar e os níveis de sódio, cálcio e bicarbonato serem mais altos^{12,15}.

A prevalência de cárie dental se mostra não ser maior do que o normal nos portadores desta trissomia, porém ocorre uma apresentação de perda óssea elevada em relação a média, e com isso ocorre uma significativa propensão ao desenvolvimento de uma doença periodontal, aumentando as chances no decorrer do tempo¹⁸.

As principais características que predis põem o aparecimento da cárie nos portadores da trissomia é a presença de

fissuras oclusais estreitas e profundas, ou sulcos vestibulares/linguais, e a falta de uma higiene adequada também aumenta a incidência de cárie, podendo assim trazer problemas de infecções generalizadas se não tratado¹⁹.

Os fatores exógenos associados ao aumento da progressão da doença periodontal nos pacientes portadores da trissomia do cromossomo 21 incluem a falta de higiene bucal, má oclusão, presença de matéria alba e cálculo, macroglossia e um hábito constante de manter a boca entreaberta⁸.

Alterações bucais comuns em portadores da trissomia

A trissomia do cromossomo 21 possui diversas manifestações bucais, incluindo: palato estreito, alto e ogival, mandíbula e cavidade bucal pequenas e a língua que se apresenta frequentemente fissurada e grande, podendo apresentar glossite migratória benigna (língua geográfica)¹¹.

É normal que os portadores possuam a postura da língua aberta, graças a nasofaringe estreita, bem como tonsilas e adenóide hiper trofiada. A protrusão da língua e respiração bucal são frequentes devido a secura e fissura dos lábios. Na região das comissuras labiais, é visto a presença de queilite angular, em razão da dificuldade que o indivíduo possui em fechar a boca¹⁵.

Os dentes apresentam anomalias características e doença periodontal predominante. Dentre as anomalias dentais que são mais frequentes associadas a trissomia estão: microdontia, fusão, oligodontia, hipodontia e taurodontia. Sendo a mais frequente destas a microdontia. As anomalias dentárias de desenvolvimento, como as malformações coronárias e radiculares também são comuns. Variações morfométricas contendo os segundos molares decíduos são encontradas de forma frequente nos portadores da trissomia do cromossomo 21^{20,21}.

Mordidas cruzadas posteriores, apertognatia, desarmonias oclusais e apinhamento pronunciado dos dentes são comuns nos portadores. O elevado índice da má oclusão está associado a alterações na arcada superior, sendo precisamente na região de caninos e incisivos. A característica se deve ao fato do arco maxilar se apresentar pequeno e ogival, associado à macroglossia e outros fatores etiológicos exógenos^{15,18}.

O atraso na erupção é frequentemente encontrado nos pacientes da trissomia, ocorrendo normalmente aos 6 meses e estando presente tanto na dentição decídua como na permanente e o fluxo salivar dos pacientes portadores da trissomia são em média 50% menor do que em pessoas normais. Esta redução está associada preferencialmente ao metabolismo da glândula parótida. Além do mais, o pH salivar é mais alto, assim como os níveis de sódio, bicarbonato e cálcio¹².

A incidência e prevalência de cárie em portadores de trissomia é inferior quando comparada, porém os pacientes

apresentam uma significativa propensão ao desenvolvimento de doença periodontal, aumentando de acordo com a idade¹⁹.

Consequências das afecções odontológicas das crianças com T21

Os pacientes com trissomia do cromossomo 21 devem possuir a participação dos seus pais e responsáveis constantemente dando estimulações nas atividades profiláticas e de manutenção da saúde bucal e naturalmente, os responsáveis dos portadores desta síndrome, passam grande parte do tempo cuidando de diversas tarefas e cuidados relacionados à síndrome, e com isso, acabam deixando de lado questões ligadas a prevenção de doenças bucais nesses indivíduos²².

O cuidador desses pacientes não recebe normalmente as instruções necessárias quanto aos cuidados direcionados aos dentes e à boca do portador da trissomia do cromossomo 21, fazendo assim que haja um aumento no risco dessa parcela de população desenvolver doenças bucais²³.

Isso reflete na compreensão do cuidados sobre a importância da saúde bucal na qualidade de vida e na inclusão social dos portadores da síndrome e apesar de haver uma prevalência de doenças bucais, principalmente a doença periodontal e a cárie, sendo relacionada diretamente com a higiene oral, existe um grande percentual de pais e responsáveis que não identifica a escovação como uma tarefa de prioridade no indivíduo com trissomia do cromossomo 21²⁴.

Uma problema causado diretamente devido a falta de higiene oral no indivíduo portador da síndrome é a halitose. Na literatura o mau hálito não é retratado em crianças com trissomia do cromossomo 21, porém pode se tornar presente nos adultos portadores da síndrome, devido a fatores que se tornam cada vez mais preentes na cavidade oral como a higiene oral precária, a respiração bucal, a motricidade oral deficiente, as maloclusões e os problemas periodontais, sendo que a língua dos portadores da síndrome é bastante fissurada, e essas fissuras acabam provocando um acúmulo de restos alimentares que propovocam halitose^{22,24}.

Os problemas bucais envolvem não somente a saúde física do portador da trissomia do cromossomo 21, mas também o seu bem-estar econômico, social e psicológico, e são capazes até mesmo de influenciar na autoestima e consequente qualidade de vida destes indivíduos²⁵.

Prevenção das alterações bucais

Nas doenças orais é importante para evitar o aparecimento ou progressão é necessário uma boa higiene e profilaxia. A fase de manutenção e controle de doença deve ser realizado de 3 em 3 meses, com inclusão de raspagens e alisamento radicular,

uso de clorexidina e antibioticoterapia sistêmica nos casos de doenças periodontais se necessário²³.

O apoio familiar é extremamente fundamental na gestão de doenças bucais, e o uso do fio dental e das escovas mecanizadas para os pacientes portadores da trissomia do cromossomo 21 podem possuir grande utilidade, porém o uso do fio dental pode ser difícil para alguns pacientes²⁷.

O nível de motivação do paciente interfere diretamente na manutenção da higiene oral. Se o paciente estiver motivado para realizar a higiene oral, o controle das doenças bucais será mais eficaz²⁸. Na consulta dos pacientes portadores da síndrome, um membro da família deve estar sempre presente e deve receber juntamente com o paciente as explicações com natureza clara e objetiva para um entendimento satisfatório dos problemas que podem gerar a falta da higiene bucal e do acompanhamento ao cirurgião dentista. Devem também ser incluídas dietas saudáveis e procedimentos diários com a supervisão dos responsáveis com uso de flúor tópico e bochechos de flúor²⁹.

A primeira consulta é essencial, pois além de um diagnóstico e de uma programação criteriosa do tratamento da criança portadora da síndrome, é avaliado o grau da ansiedade tanto dos pais quanto do paciente, e também deve ser avaliado o relacionamento familiar. É importante que seja apresentado as dependências do consultório aos pais e ao paciente, devido ao estímulos ambientes e emocionais poderem afetar no comportamento do paciente. Os pais ou os responsáveis pelo paciente devem ser aconselhados a não falar claramente sobre suas vivências e sobre seu medo em relação ao tratamento odontológico, devido a poder trazer ao paciente uma expectativa negativa e consequentemente um medo³⁰.

O planejamento do atendimento ao paciente portador da síndrome deve ser dividido em quatro partes, sendo elas³¹:

- Fase sistêmica: que abrange a investigação dos dados sobre a saúde geral do paciente, com a solicitação de exames complementares;

- Fase preparatória: possui o objetivo de adequar o meio bucal, fazendo a remoção de focos de infecção e recomendando uma mudança de hábitos do paciente e seus familiares;

- Fase restauradora: possui a função de restabelecer a forma e função dos dentes, possibilitando uma oclusão correta;

- Fase de manutenção: possui uma extrema importância, já que os pacientes especiais devem realizar visitas periódicas ao cirurgião dentista, em busca de preservar a saúde bucal.

Grande maioria dos pacientes que buscam um atendimento odontológico, já apresentam o diagnóstico de sua anormalidade firmado. É necessário que haja uma interação entre o cirurgião-dentista e os outros profissionais que atendem o

paciente, principalmente o médico. Assim, o atendimento se torna multiprofissional³⁰.

Os pacientes portadores da trissomia do cromossomo 21 normalmente são atendidos seguindo-se alguns critérios que facilitam a consulta, tais como: atendimentos realizados preferencialmente em dupla (o cirurgião-dentista e um auxiliar treinado), com a presença do responsável pelo paciente, tempo da consulta não deve exceder 30 minutos³¹.

Equipamentos de contensão física, caneta de alta rotação com a cabeça pequena, micromotor, sugador de saliva potente e abridores de boca de vários tamanhos são essenciais estar ao alcance do cirurgião dentista durante o atendimento para que seja agilizado além do uso de anestésicos nos procedimentos que provoquem uma sintomatologia dolorosa³¹.

O consultório deve ser equipado com todos os materiais necessários na emergência médica e deve possuir uma auxiliar que tenha conhecimento dos equipamentos, medicamentos e manobras do suporte básico de vida, e saiba o número do pronto socorro mais próximo, devido à durante o momento dos atendimentos, os pacientes especiais possuem um risco maior de emergências³².

Para a prevenção dos problemas bucais nos pacientes portadores da trissomia do cromossomo 21, foi desenvolvido a seguinte tabela com os cuidados a serem tomadas de acordo com a idade do paciente³³:

Quadro 1. Protocolo de cuidados relacionados à saúde bucal para a criança portadora da trissomia do cromossomo 21³³

IDADE	RECOMENDAÇÕES
0-3 anos	-Amamentação materna é o melhor suprimento alimentar para os bebês. -A criança deve tentar ingerir líquidos a partir dos seis meses de idade através de um copo, evitando o uso da mamadeira. -Não deve ser adicionado açúcar aos alimentos. -Os adultos precisam supervisionar ou escovar os dentes da criança. -Usar uma pequena quantidade de pasta dental. -Assim que surgir o primeiro dente escovar antes de dormir e após as refeições.
3-6 anos	-Escovar os dentes da criança ao acordar, antes de dormir e após as refeições, sempre com supervisão. -A quantidade da pasta deve ser do tamanho de uma ervilha. -O açúcar não deve ser consumido mais de quatro vezes ao dia. -Dê preferência a remédios que não contenham açúcar.
A partir dos 7 anos	-Escovar os dentes ao acordar, antes de dormir e após as refeições, sempre com supervisão. -Usar pasta de dente com flúor. -O açúcar deve ser consumido menos de quatro vezes ao dia, e evitar alimentos e medicamentos que contenham açúcar. -Fazer o uso de enxaguante bucal com flúor todos os dias em um horário diferente ao da escovação, sempre com supervisão.

Atuação do odontólogo frente as arbitrariedades odontológicas da criança com T21

Um indivíduo que possui um déficit intelectual leve pode ser atendimento pelo cirurgião dentista no consultório odontológico, e a anestesia geral é indicada nos casos que as técnicas de condicionamento não funcionam, ou quando existem uma deficiência mental grave⁷.

Nos procedimentos cirúrgicos, é necessário ser feito uma antibioterapia profilática, com o parecer do médico cardiologista do paciente, graças às alterações cardíacas congênitas presentes em grande parte dos portadores²⁸.

Os cuidados em relação a higiene bucal desses pacientes são redobrados, em razão do alto risco de doença periodontal precoce e normalmente o padrão da higiene oral desses pacientes é muito pobre, devido ao retardo físico e mental, sendo necessário que o profissional redobre esse tipo de atenção durante os atendimentos e procedimentos. Os auxiliares para profilaxia envolvem clorexidina, escovas dentais automáticas, enxaguatórios, dieta não cariogênica e pastas fluoretadas, além de raspagens regulares³⁰.

É necessário que haja o incentivo para as mães dos portadores da trissomia aumentarem a prática do aleitamento materno, em razão da hipotonicidade muscular generalizada. A fonoaudiologia tem contribuição para promoção de um estímulo precoce na musculatura³¹.

O paciente portador da trissomia do cromossomo 21 possui tanto manifestações sistêmicas quanto orais, sendo essencial o atendimento que inclua o conceito de globalidade e que disponibilize aos pacientes serem assistidos por uma equipe multidisciplinar³.

Normalmente esses pacientes devem ir com mais frequência no consultório dentário. Os profissionais normalmente encontram alguns dificuldades em realizar o atendimento, porém o consultório deve reunir determinadas condições adequadas e ergonômicas de acessibilidade, como por exemplo portas largas, corrimãos para apoio, rampas para cadeiras de rodas⁷.

Normalmente os cirurgiões dentistas se sente pouco à vontade diante do atendimento de pacientes especiais, há uma falta de sensibilidade e confiança, e a remuneração é desadequada²². O profissional deve focar na sua abordagem no nível de compreensão e da comunicação com a criança. A comunicação entre o cirurgião dentista e o paciente deve ser com contacto ocular e a atuação do odontopediatra deve ser direcionada à criança com a finalidade de conseguir apurar quais as suas motivações para criar estratégias que deixem a criança interessada e que colabore no tratamento²⁷.

Sendo assim os problemas dentários ligados a trissomia do cromossomo 21 podem ser reduzidos ou até mesmo elimi-

nados quando acompanhados por médicos dentistas desde a fase da dentição decídua³.

Conclusão

Foram analisados vários estudos para observação das alterações bucais dos portadores da trissomia do cromossomo 21, diante dos quais foi concluído que referida alteração genética promove diversas alterações bucais, que se não consideradas durante a abordagem odontológica, podem levar a problemas sérios de saúde, e que se diagnosticadas precocemente o tratamento pode ser realizado com sucesso.

As doenças na cavidade oral do paciente portador da trissomia do cromossomo 21 podem acarretar problemas de saúde, comprometimento na rotina diária do indivíduo, alterações comportamentais e dificuldades de interação social, o que gera a necessidade de um atendimento de acordo com suas necessidades, de caráter integral, com dimensão dos fatores de risco à saúde e com enfoque preventivo.

A integralidade já declarada não se define com a reprodução de protocolos ou rotinas, o profissional deve ter conhecimento e compreensão do contexto de vida do paciente para ser capaz de adaptar a sua atuação no contexto de cada consulta. São necessários mais estudos sobre a temática da trissomia do cromossomo 21 acerca das alterações bucais e seu manejo, buscando enfoque preventivo na abordagem terapêutica, utilizando-se de diagnóstico precoce e preconizando a qualidade de vida destes pacientes.

Referências

1. Oliveira RMB de, Junior PA de A. Sensibilização para o Cuidado em Saúde Bucal em Pacientes com Síndrome de Down. *Ciência Atual – Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário São José*. 2017;10(2).
2. Acerbi AG, de Freitas C, de Magalhães MH. Prevalence of numeric anomalies in the permanent dentition of patients with Down syndrome. *Spec Care Dentist*. 2001;21(2):75–8.
3. Oliveira AC, Czeresnia D, Paiva SM, Campos MR, Ferreira EF. Uso de serviços odontológicos por pacientes com síndrome de Down. *Rev Saúde Pública*. 2008;42(4):693–9.
4. Falcão AC de SLA, Santos JM dos, Nascimento KLL, Santos DB do N, Costa PV de A. Síndrome de Down: abordagem odontopediátrica na fase oral. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo*. 2019;31(1):57–67.
5. Kwon JY, Park IY, Kwon S-M, Kim CJ, Shin JC. The quadruple test for Down syndrome screening in pregnant

- women of advanced maternal age. *Arch Gynecol Obstet*. 2012;285(3):629–33.
6. Carvalho ACA de, Campos PSF, Crusoé-Rebello I. Síndrome de Down: aspectos relacionados ao sistema estomatognático. *CMBIO*. 2010;9(1):49.
 7. Silva ZCM da, Pagnoncelli SD, Weber JBB, Fritscher AMG. Avaliação do perfil dos pacientes com necessidades especiais da clínica de odontopediatria da Faculdade de Odontologia da PUCRS. *Rev odontol ciênc*. 2005;20(50):313–8.
 8. Pereira Macho VM, Seabra M, Pinto A, Soares D, De Andrade C. Alterações craniofaciais e particularidades orais na trissomia 21. *Portuguese Journal of Pediatrics*. 2014;190-194.
 9. Wu AS. A construção social da Síndrome de Down. *Cadernos de Psicopedagogia*. 2007;6(11):00–00.
 10. Santangelo CN, Gomes DP, Vilela L de O, Deus TS de, Vilela V de O, Santos EM. Avaliação das características bucais em pacientes portadores de síndrome de Down da APAE de Mogi das Cruzes - SP. *Cons Saúde*. 2008;7(1):29–34.
 11. Reimand T, Uiho O, Zordania R, Palmiste V, Ounap K, Tqlvik T. Parents' satisfaction with medical and social assistance provided to children with Down syndrome: experience in Estonia. *Community Genet*. 2003;6(3):166–70.
 12. Schwartzman JS. Síndrome de Down. São Paulo: Memnon; 2003.
 13. Gabriela Talita C, Mascarello AP, Bardini DR, Fracaro GB, Boleta-Ceranto D de CF. O papel do cirurgião-dentista na manutenção da saúde bucal de portadores de síndrome de down. *Odontologia Clínico-Científica (Online)*. 2011;10(3):247–50.
 14. Carvalho ACA de, Campos PSF, Crusoé-Rebello I. Síndrome de Down: aspectos relacionados ao sistema estomatognático. *cmbio*. 2010;9(1):49.
 15. Regezi JA, Moleri AB, David FP, Moreira LC, Tavares RR. Patologia bucal: correlações clínico patológicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
 16. Peretz B, Shapira J, Farbstein H, Arieli E, Smith P. Modification of tooth size and shape in Down's syndrome. *J Anat*. 1996;188(Pt 1):167–72.
 17. Mestrovic SR, Rajic Z, Papić JS. Hypodontia in patients with Down's syndrome. *Coll Antropol*. 1998;22 Suppl:69–72.
 18. Ondarza A, Jara L, Bertonati MI, Blanco R. Tooth malalignments in Chilean children with Down syndrome. *Cleft Palate Craniofac J*. 1995;32(3):188–93.
 19. Gabre P, Martinsson T, Gahnberg L. Longitudinal study of dental caries, tooth mortality and interproximal bone loss in adults with intellectual disability. *Eur J Oral Sci*. 2001;109(1):20–6.
 20. Townsend GC. Tooth size in children and young adults with trisomy 21 (Down) syndrome. *Arch Oral Biol*. 1983;28(2):159–66.
 21. Peretz B, Katzenel V, Shapira J. Morphometric variables of the primary second molar in children with Down syndrome. *J Clin Pediatr Dent*. 1999;23(4):333–6.
 22. Hennequin M, Allison PJ, Veyrune JL. Prevalence of oral health problems in a group of individuals with Down syndrome in France. *Dev Med Child Neurol*. 2000;42(10):691–8.
 23. Oliveira AC, Luz CLF, Paiva SM. O papel da saúde bucal na qualidade de vida do indivíduo com síndrome de Down. *Arq Odontol*. 2007;43(4).
 24. Marcondes E, Vaz FAC, Ramos JLA, Okay Y. *Pediatria básica: pediatria geral e neonatal*. 9. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
 25. De Oliveira ACB, De Paiva SM, Pordeus IA. Fatores relacionados ao uso de diferentes métodos de contenção em pacientes portadores de necessidades especiais. *BDS*. 2010;7(3).
 26. Raggio DP, Takeuti ML, Guaré R de O, Haddad AS, Imparato JCP, Ciamponi AL. Remoção químico-mecânica de tecido cariado em paciente portador de síndrome de Down: relato de caso clínico. *JBP, j bras odontopediatr odontol bebê*. 2001;191–6.
 27. Pilcher E. Dental care for the patient with down syndrome. *Down Syndrome Research and Practice*. 1998;5(3):111–6.
 28. Elias R. *Odontologia de Alto Risco – Pacientes especiais*. Rio de Janeiro: Revinter; 1995.
 29. Rodríguez Guerrero K, Clavería Clark RA, Peña Sisto M. Algunas características clinicoepidemiológicas del síndrome de Down y su repercusión en la cavidad bucal. *MEDISAN*. 2015;19(10):1272–82.
 30. Mugayar FRL. *Pacientes portadores de necessidades especiais: Manual de Odontologia e Saúde Oral*. São Paulo: Pancast; 2000.
 31. Correa MSNP. *Odontopediatria na primeira infância*. 2. ed. São Paulo: Editora Santos; 2005.
 32. Haddad AS. *Odontologia para pacientes com necessidades especiais*. São Paulo: Editora Santos; 2007.
 33. Bull MJ, Committee on Genetics. Health supervision for children with Down syndrome. *Pediatrics*. 2011;128(2):393–406.

Investigation of molecular mechanisms of cannabinoids with neuromodulator activity using *in silico* tools

Investigação de mecanismos moleculares de canabinóides com atividade neuromoduladora usando ferramentas *in silico*

Aline Lins da Silva¹, Thais Linhares Silva¹, Leonardo Luiz Borges^{1,2}

¹ Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

² Universidade Estadual de Goiás – UEG

Abstract

This work aims to complement the investigations of the molecular mechanisms of cannabinoids and their receptors, elucidating molecular targets that explain the effect of chemical compounds present in *Cannabis sativa* on central neuromodulation through *in silico* methods. *Cannabis sativa* metabolites were collected bibliographically, and the coding of molecules to perform the predictions were obtained from the PubChem website. Bioactivity screening was then performed with SwissADME, ProToxII, PASS, and Molinspiration programs and target search with SuperPred Webserver servers. After target identification, the selected structure was obtained from the Protein Data Bank (PDB) site for molecular docking with the GOLD program. *Cannabis sativa* metabolites had their physicochemical and biological properties analyzed. The targets for molecular docking were identified and verified for each compound, with their respective structures crystallized in the Protein Data Bank (PDB). The tetrahydrocannabinarin (THCV) molecule was selected because it predicted interaction with the N-arachidonylglycine receptor (PDB ID: 4UUQ). Docking reveals a potential interaction of THCV with the N-arachidonylglycine receptor. Furthermore, the binding structure of this study showed pharmacophoric alignment with the five most potent molecules capable of antagonizing the monoglycerate lipase receptor. THCV docking showed anchoring of this molecule in the active site of the N-arachidonylglycine receptor due to the activities of this species. Thus, this marker could act as an antagonist of this receptor, behaving as an active metabolite with neuromodulatory activity through a possible alteration of microglial activity in the central nervous system, which may act as a therapeutic agent in neurodegenerative pathologies.

Keywords: *Cannabis sativa*; central nervous system; Tetrahydrocannabinarin.

Resumo

Este trabalho visa complementar as investigações dos mecanismos moleculares dos canabinóides e seus receptores, elucidando alvos moleculares que explicam o efeito dos compostos químicos presentes na *Cannabis sativa* na neuromodulação central através de métodos *in silico*. Os metabólitos da *Cannabis sativa* foram coletados bibliograficamente, e a codificação das moléculas para realizar as previsões foi obtida no site PubChem. A triagem de bioatividade foi então realizada com os programas SwissADME, ProToxII, PASS e Molinspiration e a busca de alvos com servidores SuperPred Webserver. Após a identificação do alvo, a estrutura selecionada foi obtida do site Protein Data Bank (PDB) para docking molecular com o programa GOLD. Os metabólitos da *Cannabis sativa* tiveram suas propriedades físico-químicas e biológicas analisadas. Os alvos de docking molecular foram identificados e verificados para cada composto, com suas respectivas estruturas cristalizadas no Protein Data Bank (PDB). A molécula de tetrahydrocannabinarin (THCV) foi selecionada porque previu interação com o receptor de N-arachidonylglicina (PDB ID: 4UUQ). O docking revela potencial interação do THCV com o receptor N-arachidonylglicina. Além disso, a estrutura de ligação deste estudo mostrou alinhamento farmacofórico com as cinco moléculas mais potentes capazes de antagonizar o receptor de mono-glicerato lipase. O docking do THCV mostrou ancoragem desta molécula no sítio ativo do receptor

Contato para correspondência:

Leonardo Luiz Borges

E-mail:

leonardo.cbb@pucgoias.edu.br

Conflito de interesse:

Não

Financiamento:

Recursos próprios

Recebido:

18/11/2021

Aprovado:

07/12/2021



N-araquidonilglicina devido às atividades desta espécie. Assim, esse marcador poderia atuar como um antagonista desse receptor, comportando-se como um metabólito ativo com atividade neuromodulatória por meio de uma possível alteração da atividade microglial no sistema nervoso central, que pode atuar como agente terapêutico em patologias neurodegenerativas.

Palavras-chave: *Cannabis sativa*; sistema nervoso central; Tetrahidrocannabinol.

Introduction

The species known as "marijuana", "ganja" or "hemp", is among the oldest plants that have been cultivated and exploited by mankind for its numerous properties and uses such as obtaining fiber, food, and medicine, also thanks to its adaptability in a wide range of habitats¹.

Medicines based on cannabis extracts are produced for different therapeutic indications such as Alzheimer², neuropathic pain in multiple sclerosis³ and in rheumatoid arthritis⁴, schizophrenia⁵, Parkinson⁶, and epilepsy⁷, sometimes constituting the only therapeutic alternative in the control of severe and incurable diseases.

Regarding botanical aspects, the species *C. sativa* is a dioecious annual plant, rarely monoecious, rich in trichomes, epidermal glandular protrusions that cover the leaves, bracts, and stems of the plant⁸. These glandular trichomes involve metabolites such as phytocannabinoids, which are responsible for the defense and interaction with herbivores and pests, together with terpenoids, which generate the typical aroma of *C. sativa*⁹. It is worth noting that dioecy facilitates genetic variability and consequently the plant's adaptability to different habitats since it requires that reproduction be made in other plants.

C. sativa is characterized by a chemical complex, including terpenes, carbohydrates, fatty acids, and their esters, amides, amines, phytosterols, phenolic compounds, and the specific compounds of this plant, namely, cannabinoids⁹. Cannabinoids are meroterpenoids, obtained from the alkylation of an alkylresorcinol with a monoterpene¹⁰. They are mainly synthesized in glandular trichomes, which are more abundant in female inflorescences⁹.

More than 100 cannabinoids have been isolated, characterized, and divided into 11 chemical classes. Typically, the most abundant cannabinoids present in drug-type plants are Δ -tetrahydrocannabinolic acid (Δ 9-THCA) and Δ 9-tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC). In contrast, fiber-type plants are known to contain mainly cannabinoid acids, such as cannabidiolic acid (CBDA) and cannabigerolic acid (CBGA), followed by cannabidiol (CBD) and cannabigerol (CBG)^{11,12}. Other minor cannabinoids include cannabichromenic acid

(CBCA), cannabichromene (CBC), cannabinolic acid (CBNA), and cannabinol (CBN), with the latter two being the oxidative degradation products of Δ 9-THCA and Δ 9-THC, respectively, present in Aged cannabis.

The pharmacological effects are attributed to the interaction of cannabinoids with their receptors distributed in the central nervous system (CB1) and peripheral (CB2)¹³. Δ 9-THC binds to CB1 and CB2 receptors, acting as a partial agonist, exerting a mixed neural activity, excitatory and inhibitory, in different areas of the brain, showing that it does not affect only on specific cannabinoid receptors¹⁴.

In this sense, endocannabinoids (ECS) appear like a complex and widespread brain signaling in the nervous system that plays a role in affective and cognitive functions and in psychotic disorders and may be the target for the act of various therapeutic compounds. The elucidation of ECS also sheds light on the human fascination with cannabis, which appears to be the only plant that produces a potent cannabinoid activator of CB1¹⁹.

The current development of drugs that alter endocannabinoid signaling and how this complex system could be pharmacologically manipulated in the future should be the focus of further studies. In this sense, the discovery of new chemical entities (NEQ), candidates for new drugs in *Cannabis sativa*, comprises a complex chain that needs to be well articulated to be effective.

Thus, a new drug candidate can emerge by selecting bioactive molecules, employing molecular targets, and defining biochemical pathways that these compounds can interfere⁹. Therefore, using this planning, it is possible to predict and verify biological activities of interest to the pharmacology of molecules present in a potential drug¹⁵.

Phytocannabinoids are highly unique compounds; they are promiscuous in action, modulating a range of pharmacological targets and exhibiting high antioxidant capacity due to their phenolic structures and the presence of hydroxyl groups¹⁶⁻¹⁸. Together with their lipophilicity and ability to act as anti-inflammatory agents, these characteristics make them desirable therapeutic candidates for the treatment of CNS disorders, as they can effectively cross the blood-brain barrier

(BBB), modulate the immune response, and address the many aspects of neurodegeneration¹⁹.

These characteristics have been well established for Δ^9 -THC and CBD, but some secondary plant constituents are less known. Thus, to understand the full therapeutic potential of *Cannabis sativa*, the pharmacology of the lesser-known components of the plant must be elucidated¹⁷.

Thus, within the current scenario of recent authorizations, this work aims to complement the investigations of the molecular mechanisms of cannabinoids and their receptors, elucidating molecular targets that explain the effect of cannabinoid metabolites present in this species regarding central neuromodulation through *in silico* methods.

Therefore, this study of the cannabinoids present in *Cannabis sativa* may provide new information about its high efficacy and safety margins and may continue to inspire a rich source of refined compounds pharmacologically associated with new therapies. Therefore, such results can facilitate the regulatory and bureaucratic path for physicians and scientists to conduct well-designed studies seeking to mitigate the symptoms of neurological and psychiatric diseases.

Methods

The active compounds present in the *Cannabis sativa* species were identified by searching scientific articles in the Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Scielo (<https://www.scielo.org/>) databases), ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>) and Capes Periodicals (<https://www.periodicos-capes.gov.br/ezi.periodicos.capes.gov.br/index.php?>). After identifying these compounds, the coding of the molecules (through the canonical smiles) was obtained from PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)²⁰ for further analysis. Furthermore, to screen for pharmacokinetic, biological, and toxicological properties, the SwissADME²¹ programs (<http://www.swissadme.ch/>) were used. PASS PREDICTION^{22,23} (<http://way2drug.com/PassOnline/>), Molinspiration²⁴ (<http://way2drug.com/PassOnline/>) and ProToxII^{25,26} (https://tox-new.charite.de/protox_II/).

The selected substances were searched for possible targets using the SwissTargetPrediction program (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)²⁷. This server allows predicting the most likely macromolecular targets of a potential ligand molecule. The targets that demonstrated a relationship with the investigated biological activity were then obtained from the Protein Data Bank²⁸ (PDB) database (<https://www.rcsb.org/>). Finally, the compounds with the highest scores for neuromodulatory activity in the servers employed were selected for molecular docking simulations (Figure 1).

After selecting the most likely targets, the GOLD Suite 5.8.0 program performed molecular docking²⁹. After preparing the molecular targets, the region of interest used (binding site) for the docking was defined as all protein residues within a radius of 10Å in relation to the co-crystallized ligand. Standard conditions of all other parameters were used, and the PDB ID: 4UUQ complex was submitted to genetic algorithm analysis. The CHEMPLP38 score function associated with the ASP rescoring function was used for this docking. To validate the model parameters, redocking was performed using the ligand complex co-crystallized with the crystallized protein, and these conditions were used to perform the docking with the best ligands of the *Cannabis sativa* species.

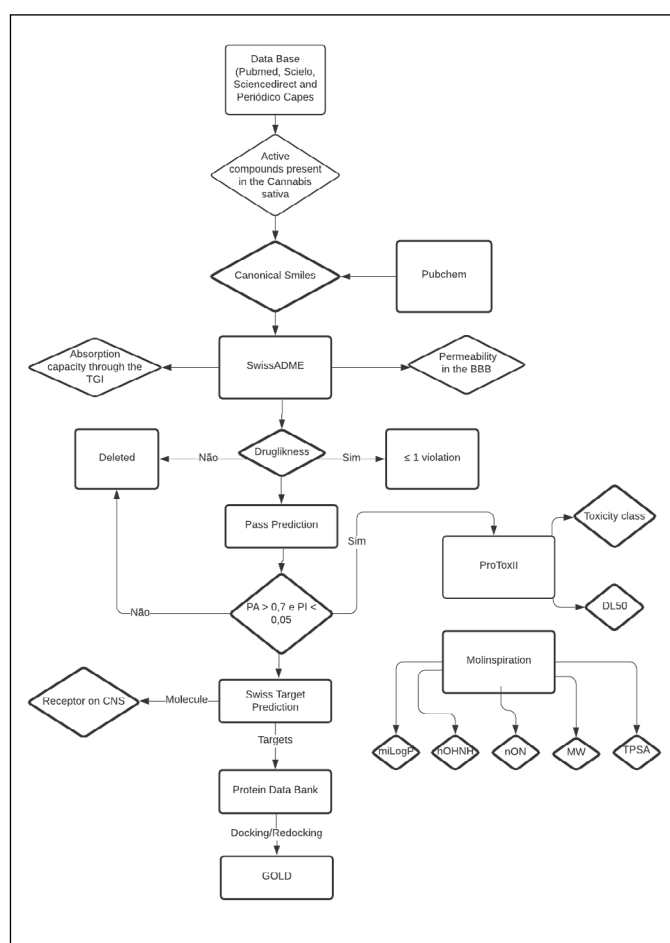


Figure 1. Schematic representation of the methodology sequence.

Results

Cannabis sativa species contains hundreds of different metabolites, divided into cannabinoid and non-cannabinoid compounds. Among these compounds, the primary cannabinoids are: cannabigerol, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, canna-

bichromene, cannabidiol, cannabielsoin, cannabicyclol, cannabinol, cannabitriol, cannabinolic acid, cannabigerolic acid, tetrahydrocannabivarin, and among the non-cannabinoids, C, 6 -cannabinoids prenilapigenin, 2,3,6,7-tetramethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-4-ol (Figure 2).

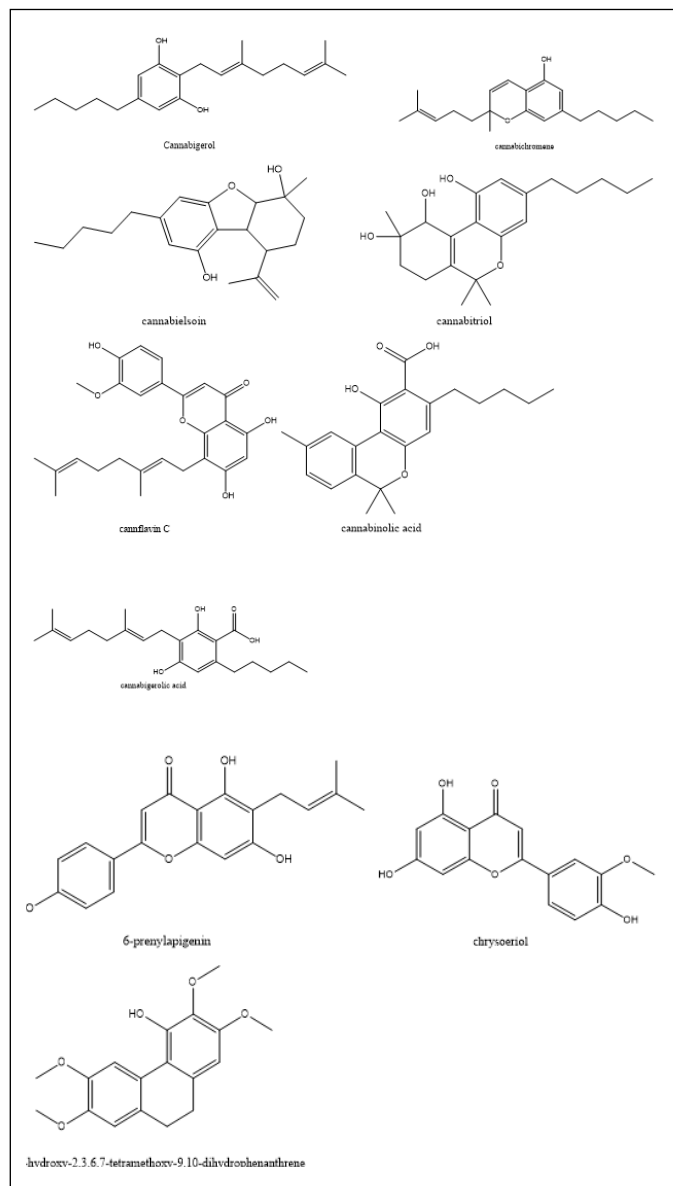


Figure 2. Structures present in the species *Cannabis sativa*

After obtaining the canonical smiles of these compounds from Pubchem²⁰, they were all submitted to pharmacokinetic prediction analysis and relation to biological activity using the SwissADME²¹ and PassPrediction^{22,23} programs, respectively. As a result, the compounds analyzed were classified as druglike, following Lipinski's criteria, which predicts the ability of their behavior to be similar to drugs used orally and the metabolic

activity of these elements³⁰. Thus, all 15 compounds studied were druglike, with a maximum of 1 violation of Lipinski's rules.

In SwissADME²¹, it was also possible to predict the absorption capacity through the gastrointestinal tract (TGI) and the permeability in the blood-brain barrier (BBB) based on the structures of the compounds. Of the compounds studied, all, except cannflavin C, were shown to have high absorption by TGI. In addition, the compounds cannabigerol, cannabichromene, cannabinolic acid, cannabigerolic acid, cannflavin C, cryoeriol, and 6-prenilapigenin do not cross the BBB; the other compounds do. Furthermore, the toxicity class and the mean lethal dose (LD50) were obtained using ProToxII^{25,26}, which demonstrated class 4 toxicity for most compounds, with the exception of cannabinol, class 6, and those that presented class 5, cannflavin C, cryoseriol and 6-prenilapigenin. The action of these metabolic on central nervous system receptors was predicted by SwissTargetPrediction²⁷. All these results are summarized in Table 1.

Table 1. Summary of the properties of metabolites present in *Cannabis sativa* species.

Compounds	MW	nOHNH	nON	TPSA	miLogP	Druglike	Viol	TGI	BBB	DL50	CT	Target in the Nervous System
Cannabigerol	23	2	2	40.46	7.84	YES	1	HIGH	NO	500mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2; G55 protein-coupled receptor
Δ^9 -rahydrocannabinol	314.47	1	2	29.46	6.69	YES	1	HIGH	YES	482mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2; N-arachidonylglycine receptor
Cannabichrome	314.47	1	2	29.46	7.50	YES	1	HIGH	NO	750mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2
Cannabidiol	314.47	2	2	40.46	7.14	YES	1	HIGH	YES	500mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2; G55 protein-coupled receptor
Cannabielsoin	330.47	2	3	49.69	5.79	YES	0	HIGH	YES	500mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2
Cannabicyclol	314.47	1	2	29.46	6.64	YES	1	HIGH	YES	860mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2
Cannabinol	310.44	1	2	29.46	6.81	YES	1	HIGH	YES	13500mg/kg	6	Cannabinoid receptor 1 and 2
Cannabitriol	346.47	3	4	69.92	4.61	YES	0	HIGH	YES	750mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2
Cannabinolic acid	354.45	2	4	66.76	6.31	YES	0	HIGH	NO	400mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2
Cannabigerolic acid	360.49	3	4	77.75	7.13	YES	1	HIGH	NO	1000mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2
Tetrahydrocannabivarin	286.42	1	2	29.46	5.62	YES	0	HIGH	YES	482mg/kg	4	Cannabinoid receptor 1 and 2; N-arachidonylglycine receptor and glycine receptor alpha-1 subunit
Cannflavin C	436.50	3	6	100.13	6.38	YES	0	LOW	NO	3919mg/kg	5	-----
Cryoserol	30.27	3	6	100.13	2.28	YES	0	HIGH	NO	4000mg/kg	5	-----
6-prenylapigenin	338.36	3	5	90.89	4.71	YES	0	HIGH	NO	3919mg/kg	5	-----
2,3,6,7-Tetra-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-4-ol	316.35	1	5	57.16	3.01	YES	0	HIGH	YES	1000mg/kg	4	-----

Caption: Viol: violations; TGI: gastrointestinal tract; BBB: blood brain barrier; CT: toxicity class; SN: the nervous system.

In the search for targets to perform molecular docking using the programs SuperPredWebserver³¹ (<https://prediction.charite.de/>) and SwissTargetPrediction²⁷, the targets of each compound and their respective crystallographic structures in the PDB²⁸ (Protein Data Bank) were verified. Of the compounds shown in Table 1, the tetrahydrocannabivarin (THCV) molecule was selected for interactions with central nervous system receptors, such as cannabinoid receptor 1, cannabinoid receptor 2 and N-arachidonylgline.

Thus, THCV was chosen for its characteristics, being druglikeness, according to Lipinski's criteria, without violations, presenting high absorption by the TGI, crossing the blood-brain barrier, and having a safe mean lethal dose (LD50). Thus, the structure ID: 4UUQ for the N-arachidonylglycine receptor was used to carry out the molecular anchoring study.

Initially, redocking (Figure 3) was performed to validate the model parameters, using the crystalized ligand 4-(((4-chlorophenyl)sulfonyl)amino)methyl)piperidine-1-carboxylic acid (64D) and as the site of binding to the 4UUQ structure to demonstrate the occurrence of the binding of 4-(((4-chlorophenyl)sulfonyl)amino)methyl)piperidine-1-carboxylic acid in the N-arachidonylglycine Receptor structure, in the same position of the form deposited in the PDB²⁸. After defining the parameters of the model to be used for docking, simulations were carried out with tetrahydrocannabivarin on the active site of the 4UUQ target.

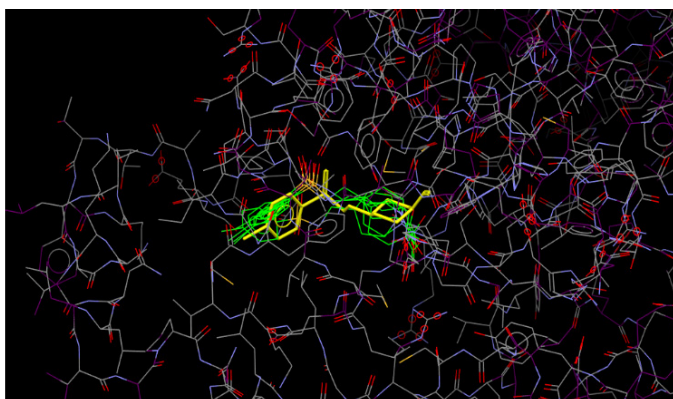


Figure 3. Redocking of 4-(((4-chlorophenyl)sulfonyl)amino)methyl)piperidine-1-carboxylic acid on N-arachidonylglycine Receptor

Docking reveals a potential interaction of THCV with the N-arachidonylglycine Receptor receptor. Figure 3 shows the two-dimensional map of interactions that can occur between tetrahydrocannabivarin and N-arachidonylglycine receptors. The main interactions that the analysis suggests can support

the structure at the active site are a hydrogen bond with SER165, π -alkyl, and alkyl-alkyl interactions with residues of ALA174, VAL217, LEU215, ALA166, LEU186, LEU224, ALA161, LEU223, LEU158, VAL227, LEU25, GLY220, LYS216, and ASN162. The three-dimensional representation of the possible interaction between tetrahydrocannabivarin and the active site of the N-arachidonylglycine receptor can be seen in Figures 4 and 5. And the pharmacophoric mapping of the tetrahydrocannabivarin substance with the five most potent antagonist ligands for the monoglycerate lipase target is shown in Figure 6.

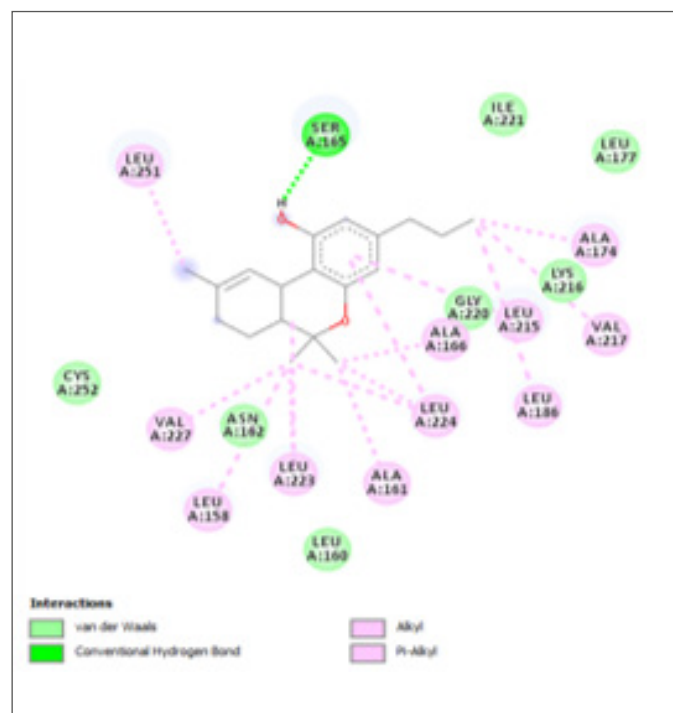


Figure 4. Pose 1 of tetrahydrocannabivarin anchorage within the N-arachidonylglycine receptor site Figure generated with the Pymol 1.1r1 software.

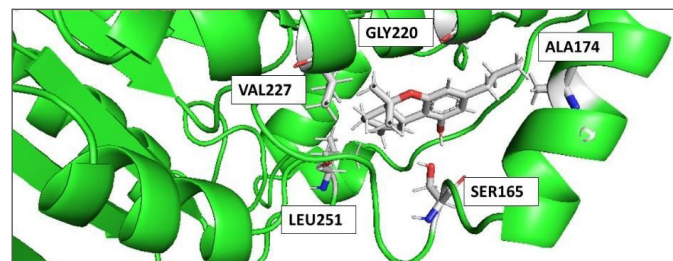


Figure 5. 2D interaction diagram of tetrahydrocannabivarin at position 1 on the N-arachidonylglycine receptor. This picture was generated with Discovery Studio 3.5 Visualizer.

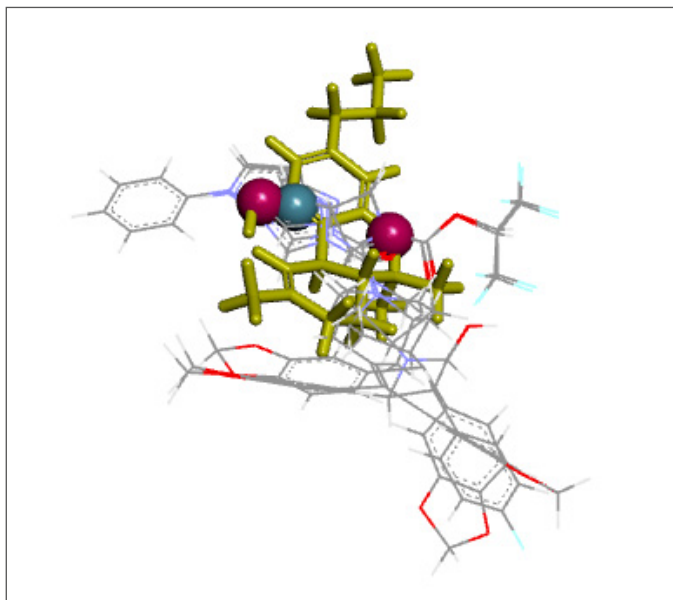


Figure 6. Pharmacophoric mapping of tetrahydrocannabivarin substance with the five most potent antagonistic ligands for the monoglycerate lipase target. Pharmacophoric characteristics are colored red for hydrogen bond acceptors and blue for aromatic rings (B).

Discussion

It is worth emphasizing a brief consideration of the current context of *Cannabis sativa* regulation policies in Brazil. Because of the clamor and pressure of social movements³², the Federal Council of Medicine (CFM) regulated the prescription of cannabis extracts at the end of 2014. After this fact, the Resolution of the Collegiate Board (RDC) No. 156, published in the Gazette Official of the Union of May 8, 2017, included the herb in the Farmacopeia Brasileira, official pharmaceutical code of Brazil, recognizing it as a medicinal plant.

In addition, recently, the Resolution of the Collegiate Board (RDC) No. 327, published in the Official Gazette of December 9, 2019, provided for the conditions and procedures for granting the Sanitary Authorization for manufacturing and import, as well as establishes requirements for the marketing, prescription, dispensing, monitoring and inspection of industrialized products containing plant derivatives or phytopharmaceuticals of *Cannabis sativa*, called Cannabis products.

Regarding the pharmacological aspects of the species, it is essential to understand the endocannabinoid system (ECB), which, in turn, is widely expressed in the central nervous system, playing roles in the regulation of synaptic plasticity through retrograde signaling. In a strict sense, it is composed of type 1 (CB1, which is widely expressed in the nervous system)

and type 2 (CB2, mainly expressed in immune cells) cannabinoid receptors, its endocannabinoid signaling molecules (e.g., anandamide (AEA); and 2-arachidonoylglycerol (2-AG), and its metabolic enzymes (NAPE-PLD, DAGL, FAAH, and MAGL)³³.

Changes to the ECB system have been observed in a variety of diseases in therapeutic areas. For example, changes in tissue concentrations of AEA and 2-AG have been observed in pain and inflammation³⁴, immunological disorders³⁵, neurological and psychiatric conditions³⁶, obesity and metabolic syndromes^{37,38}, and cancer³⁹. These observations have fueled significant interest in the development of drugs that manipulate ECB to treat these conditions^{40,41}.

Given the wide range of neuroprotective effects of Δ^9 -THC and CBD already established, it is necessary to suggest that other phytocannabinoids may exhibit similar or more potent neuroprotective properties⁴². In this context, from the survey of the active metabolites of *Cannabis sativa*, its pharmacokinetics, biological and toxicological predictive analyses, druglikeness classification, the compound tetrahydrocannabivarin (THCV) appears as a potential treatment for neurological and psychiatric conditions.

All compounds listed in the screening carried out in this study showed good solubility and permeability characteristics, according to Lipinski 1997. This classification is widely used to determine molecular properties important for the pharmacokinetic prediction of substances in vivo. According to Lipinski's rule of five on which this classification is based, a candidate molecule is more likely to have favorable properties if the molecular weight is below 500 daltons, the octanol/water partition coefficient (log P) is lower 5, if there are not more than 5 hydrogen bond donors (OH and NH groups) and if there are not 10 hydrogen bond acceptors (namely N and O)⁴³. THCV, in turn, presented the parameters mentioned above within these good limits.

Δ^9 -THCV is a homolog of Δ^9 -THC differing only by a propyl side chain, and studies have suggested that Δ^9 -THCV acts as a CB1 receptor agonist, sharing properties with Δ^9 -THC, albeit with less potency^{14,44}. They show similarities in their in vivo effects, such as inducing catalepsy in mice, and similar results to Δ^9 -THC in humans.

Two studies were found where Δ^9 -THCV showed promise as an antiepileptic agent and protected neurons in two models of Parkinson's disease; the theory is that Δ^9 -THCV promotes some of its protective effects by acting on CB1 and CB2 receptors, but, in any case, the possible mechanisms of action of Δ^9 -THCV were largely unexplored⁴⁵. Thus, although there is evidence to suggest Δ^9 -THCV mediates some of its protective effects via CB1 and CB2 receptors, the data remain largely unclear, and

there is a lack of investigation into the potential of $\Delta 9$ -THCV to act on other targets known cannabinoids.

N-arachidonoylglycine (NAGly) is a product of the oxidative metabolism of anandamide and shares a structural similarity with this endocannabinoid⁴⁶⁻⁴⁸. NAGly is believed to activate the cannabinoid receptor GPR18, but it has no affinity for the cannabinoid receptor (CB) and the potential transient vanilloid receptor 1 (TRPV1)⁴⁶⁻⁴⁸.

The GPR18 or N-arachidonoylglycine receptor used in this study is a seven-transmembrane G protein-coupled receptor consisting of 331 amino acids. GPR18 was found in peripheral blood cells, lymphoid tissues, macrophages with different expression levels for cytotoxic and reparative cells⁴⁹. It is also present in the brain^{50,51}, and in some glioblastoma multiforme cells⁵².

N-arachidonoyl glycine (NAGly)-GPR18 signaling has been introduced as an essential pathway in microglial neuronal communication, providing a novel mechanism (receptor and ligand) for targeted migration and phenotypic changes in microglia⁵³. Published data strongly support a significant role for NAGly and GPR18 in regulating microglia in the Central Nervous System and, together with subsequent work, have broader implications for our understanding of the ECB system⁵⁴.

It is worth noting that directed migration, selective phagocytosis, and free radical production are critical functions of microglia that significantly impact the overall stability of the Central Nervous System, both from a critical and long-term perspective^{55,56}.

In this study, THCV behaved as an antagonist ligand in the structure of the N-arachidonoylglycine Receptor, allowing the inference of the possible neuromodulatory action of this molecule, similarly to what was demonstrated in redocking, in which the ligand complex co-Crystallized 4-(((4-chlorophenyl)sulfonyl)amino)methyl)piperidine-1-carboxylic acid bound to the N-arachidonoylglycine Receptor structure at the site of the crystalized protein (4UUQ).

To date, there are no Food and Drug Administration-approved drug therapies that target microglial neuronal receptor-ligand interactions. In line with this, elucidating the NAGly-GPR18 neuronal-microglial communication system can lead to new pharmacotherapies focused on augmenting (optimized GPR18 ligands) or suppression (optimized GPR18 antagonists) of microglial activation in the Central Nervous System.

The THCV molecule was selected for molecular docking because it showed a more remarkable prediction of interaction with the N-arachidonoylglycine receptor anchoring in the active site of this receptor and was considered, by the computational pharmacological analyzes described in this article, as an antagonist and, therefore, a possible alteration of

microglial activity in the CNS, a finding that deserves further investigation⁵⁴.

Microglial activation and neuroinflammatory factors are prominent features of Parkinson's disease and are well documented among patients⁵⁴. Furthermore, studies have shown that microglial overactivation leads to deleterious effects and exacerbation of the immune response, especially the release of pro-inflammatory mediators. As observed with the CBG derivative VC -003.2, microglial activation was decreased at $\Delta 9$ -THCV, inducing a protective effect by dampening the immune response⁵².

$\Delta 9$ -THCV also attenuated the increased microglial activation caused by 6-hydroxydopamine, as measured by OX-42 immunostaining in the substantia nigra [$F(3,18) = 31.63$, $P < 0.0001$]. This finding possibly indicates that the neuroprotective effects of $\Delta 9$ -THCV in rats with 6-hydroxydopamine injury is due more to its antioxidant properties than its ability to activate CB 2 receptors. Given its antioxidant properties and ability to activate CB 2, but from blocking CB 1 receptors, $\Delta 9$ -THCV has a promising pharmacological profile for slowing disease progression in PD and improving parkinsonian symptoms. This represents a significant advance in the search for potential new antiparkinsonian agents, as $\Delta 9$ -THCV given alone or in combination with CBD can provide a much-needed improved treatment for PD⁵⁷.

Thus, using *in silico* techniques with *Cannabis sativa*, this article raises essential data for the future planning of a drug that uses this plant species as a basis. Therefore, it is necessary to carry out further work developed *in vitro* and *in vivo* to further the study of THCV from *Cannabis sativa* as a possible neuroprotective drug⁵⁷.

Consequently, using *in silico* techniques with *Cannabis sativa*, this article raised essential data for the future planning of a drug that uses this plant species as a basis. Therefore, it is necessary to carry out further work developed *in vitro* and *in vivo* to further the study of THCV from *Cannabis sativa* as a possible neuroprotective drug.

Conclusion

There is growing evidence that astrocytic dysfunctions may be the primary causes of the pathogenesis of several neurodegenerative diseases, such as Parkinson's Disease (PD), Alzheimer's Disease (AD), tumor, stroke, HIV-associated neurotoxicity, and Lateral Sclerosis Amyotrophic (ALS). The generation of cell therapy approaches for the replacement of glial (and non-neuronal) cells in damaged tissues, and the development of drugs targeting glial cells could open new perspectives for the restoration of the human brain.

In this context, the *in silico* study of *Cannabis sativa*, addressed in this work, elected THCV as an active metabolite with neuromodulatory activity through a possible alteration of microglial activity in the CNS. Furthermore, TCHV docking showed anchorage of this molecule in the active site of the N-arachidonylglycine receptor due to the actions of this species. Thus, this marker could act as a receptor antagonist, acting as a therapeutic agent in such neurodegenerative pathologies.

References

- Hillig KW. Genetic evidence for speciation in *Cannabis* (Cannabaceae). *Genet Resour Crop Evol*. 2005;52(2):161–80.
- Iuvone T, Esposito G, Esposito R, Santamaria R, Di Rosa M, Izzo AA. Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from *Cannabis sativa*, on β -amyloid-induced toxicity in PC12 cells. *J Neurochem*. 2004;89(1):134–41.
- Brucki SMD, Frota NA, Schestatsky P, Souza AH, Carvalho VN, Manreza MLG, et al. Cannabinoids in neurology - Brazilian academy of neurology. *Arq Neuropsiquiatr*. 2015;73(4):371–4.
- Blake DR, Robson P, Ho M, Jubb RW, McCabe CS. Preliminary assessment of the efficacy, tolerability and safety of a cannabis-based medicine (Sativex) in the treatment of pain caused by rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2006;45(1):50–2.
- Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC, Moreira FA, Guimarães FS. Cannabidiol, a *Cannabis sativa* constituent, as an antipsychotic drug. *Brazilian J Med Biol Res*. 2006;39(4):421–9.
- Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC, Pinto JP, Chagas MHN, Rodrigues GGR, et al. Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinsons disease. *J Psychopharmacol*. 2009;23(8):979–83.
- Hussain SA, Zhou R, Jacobson C, Weng J, Cheng E, Lay J, et al. Perceived efficacy of cannabidiol-enriched cannabis extracts for treatment of pediatric epilepsy: A potential role for infantile spasms and Lennox-Gastaut syndrome. *Epilepsy Behav* [Internet]. 2015;47:138–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.009>
- Huchelmann A, Boutry M, Hachez C. Plant Glandular Trichomes : Natural Cell Factories of High Biotechnological Interest 1 [OPEN]. 2017;175(September):6–22.
- Andre CM, Hausman JF, Guerriero G. *Cannabis sativa*: The plant of the thousand and one molecules. *Front Plant Sci*. 2016;7(FEB2016):1–17.
- Appendino G, Chianese G, Tagliatalata-Scafati O. Cannabinoids: Occurrence and Medicinal Chemistry. *Curr Med Chem*. 2011;18(7):1085–99.
- Brighenti V, Pellati F, Steinbach M, Maran D, Benvenuti S. Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp). *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2017;143:228–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049>
- Pellati F, Brighenti V, Sperlea J, Marchetti L, Bertelli D, Benvenuti S. New methods for the comprehensive analysis of bioactive compounds in *Cannabis sativa* L. (hemp). *Molecules*. 2018;23(10).
- Leweke FM, Koethe D. Cannabis and psychiatric disorders: It is not only addiction. *Addict Biol*. 2008;13(2):264–75.
- Pertwee RG. The diverse CB 1 and CB 2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ 9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ 9-tetrahydrocannabinol. *Br J Pharmacol*. 2008;153(2):199–215.
- Lima LM. *Biologia Molecular Década De 80*. Pdf. 2007;30(6):1456–68.
- Borges RS, Batista J, Viana RB, Baetas AC, Orestes E, Andrade MA, et al. Understanding the molecular aspects of tetrahydrocannabinol and cannabidiol as antioxidants. *Molecules*. 2013;18(10):12663–74.
- Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J, Wink D. Cannabidiol and (-)- Δ 9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(14):8268–73.
- Jiang R, Yamaori S, Takeda S, Yamamoto I, Watanabe K. Identification of cytochrome P450 enzymes responsible for metabolism of cannabidiol by human liver microsomes. *Life Sci* [Internet]. 2011;89(5–6):165–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2011.05.018>
- Grotenhermen F. Phytocannabinoids. *Handbuch Psychoaktive Substanzen*. 2018. 659–667 p.
- Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2019 update: Improved access to chemical data. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D1102–9.
- Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 2017;7(January):1–13.
- Sady M, Lagunin A, Filimonov D, Poroikov V. Prediction of biological activity spectra via the Internet. *SAR QSAR Environ Res*. 2003;14(5–6):339–47.

23. Poroikov V V., Filimonov DA. How to acquire new biological activities in old compounds by computer prediction. *J Comput Aided Mol Des.* 2002;16(11):819–24.
24. Jarrahpour A, Fathi J, Mimouni M, Hadda T Ben, Sheikh J, Chohan Z, et al. Petra, Osiris and Molinspiration (POM) together as a successful support in drug design: Antibacterial activity and biopharmaceutical characterization of some azo Schiff bases. *Med Chem Res.* 2012;21(8):1984–90.
25. Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(W1):W257–63.
26. Drwal MN, Banerjee P, Dunkel M, Wettig MR, Preissner R. ProTox: A web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(W1):3–8.
27. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(W1):W357–3664.
28. Berman HM, Battistuz T, Bhat TN, Bluhm WF, Bourne PE, Burkhardt K, et al. The protein data bank. *Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr.* 2002;58(6 I):899–907.
29. Korb O, Stützel T, Exner TE. Empirical scoring functions for advanced Protein-Ligand docking with PLANTS. *J Chem Inf Model.* 2009;49(1):84–96.
30. Lipinski CA. Lead- and druglike compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol.* 2004;1(4):337–41.
31. Dunkel M, Günther S, Ahmed J, Wittig B, Preissner R. SuperPred: drug classification and target prediction. *Nucleic Acids Res.* 2008;36(Web Server issue):55–9.
32. Carvalho VM. Farmacannabis-UFRJ: The first laboratory in Brazil to analyze therapeutic products derived from Cannabis. *Brazilian J Anal Chem.* 2017;4(16):44–9.
33. Hohmann AG, Suplita RL. Endocannabinoid mechanisms of pain modulation. *AAPS J.* 2006;8(4):693–708.
34. Jhaveri MD, Richardson D, Chapman V. Endocannabinoid metabolism and uptake: Novel targets for neuropathic and inflammatory pain. *Br J Pharmacol.* 2007;152(5):624–32.
35. Lambert DM. Allergic contact dermatitis and the endocannabinoid system: From mechanisms to skin care. *ChemMedChem.* 2007;2(12):1701–2.
36. Bisogno T, Di Marzo V. Short- and long-term plasticity of the endocannabinoid system in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacol Res.* 2007;56(5):428–42.
37. Matias I, Di Marzo V. Endocannabinoids and the control of energy balance. *Trends Endocrinol Metab.* 2007;18(1):27–37.
38. Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali R. The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocr Rev.* 2006;27(1):73–100.
39. Bifulco M, Laezza C, Gazerro P, Pentimalli F. Endocannabinoids as emerging suppressors of angiogenesis and tumor invasion (Review). *Oncol Rep.* 2007;17(4):813–6.
40. Di Marzo V. Targeting the endocannabinoid system: To enhance or reduce? *Nat Rev Drug Discov.* 2008;7(5):438–55.
41. Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(9):771–84.
42. D. P. The endocannabinoid system: a drug discovery perspective. :672–9.
43. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):4–17.
44. Pak, , William L.; Grossfield, Joseph; Arnold KS. © 1970 Nature Publishing Group. *Nat Publ Gr* [Internet]. 1970;228:726–34. Available from: <http://www.mendeley.com/research/discreteness-conductance-chnge-n-bimolecular-lipid-membrane-presence-certin-antibiotics/>
45. García C, Palomo-Garo C, García-Arencibia M, Ramos JA, Pertwee RG, Fernández-Ruiz J. Symptom-relieving and neuroprotective effects of the phytocannabinoid Δ 9-THCV in animal models of Parkinson's disease. *Br J Pharmacol.* 2011;163(7):1495–506.
46. Huang SM, Bisogno T, Petros TJ, Chang SY, Zavitsanos PA, Zipkin RE, et al. Identification of a New Class of Molecules, the Arachidonyl Amino Acids, and Characterization of One Member That Inhibits Pain. *J Biol Chem.* 2001;276(46):42639–44.
47. Parmar N, Ho WSV. N-arachidonoyl glycine, an endogenous lipid that acts as a vasorelaxant via nitric oxide and large conductance calcium-activated potassium channels. *Br J Pharmacol.* 2010;160(3):594–603.
48. Sheskin T, Hanuš L, Slager J, Vogel Z, Mechoulam R. Structural requirements for binding of anandamide-type compounds to the brain cannabinoid receptor. *J Med Chem.* 1997;40(5):659–67.
49. Takenouchi R, Inoue K, Kambe Y, Miyata A. N-arachi-

- donoyl glycine induces macrophage apoptosis via GPR18. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2012;418(2):366–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.01.027>
50. Gantz I, Muraoka A, Yang YK, Samuelson LC, Zimmerman EM, Cook H, et al. Cloning and chromosomal localization of a gene (GPR18) encoding a novel seven transmembrane receptor highly expressed in spleen and testis. *Genomics*. 1997;42(3):462–6.
 51. Kohno M, Hasegawa H, Inoue A, Muraoka M, Miyazaki T, Oka K, et al. Identification of N-arachidonylglycine as the endogenous ligand for orphan G-protein-coupled receptor GPR18. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;347(3):827–32.
 52. Finlay DB, Joseph WR, Grimsey NL, Glass M. GPR18 undergoes a high degree of constitutive trafficking but is unresponsive to N-Arachidonoyl Glycine. *PeerJ*. 2016;2016(3):1–29.
 53. McHugh D, Hu SSJ, Rimmerman N, Juknat A, Vogel Z, Walker JM, et al. N-arachidonoyl glycine, an abundant endogenous lipid, potently drives directed cellular migration through GPR18, the putative abnormal cannabinoid receptor. *BMC Neurosci*. 2010;11.
 54. McHugh D. GPR18 in microglia: Implications for the CNS and endocannabinoid system signalling. *Br J Pharmacol*. 2012;167(8):1575–82.
 55. Ferrer I, Bernet E, Soriano E, Del Rio T, Fonseca M. Naturally occurring cell death in the cerebral cortex of the rat and removal of dead cells by transitory phagocytes. *Neuroscience*. 1990;39(2):451–8.
 56. Wake H, Moorhouse AJ, Jinno S, Kohsaka S, Nabekura J. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci*. 2009;29(13):3974–80.
 57. García C, Palomo-Garo C, García-Arencibia M, Ramos J, Pertwee R, Fernández-Ruiz J. Symptom-relieving and neuroprotective effects of the phytocannabinoid Δ^9 -THCV in animal models of Parkinson's disease. *Br J Pharmacol*. 2011 Aug;163(7):1495–506.

Emprego de ferramentas *in silico* para avaliação da atividade biológica dos compostos presentes em *Curcuma longa*

Use of in silico tools to evaluate the biological activity of compounds present in Curcuma longa

Matheus Araújo Borges¹, Cristiano Mendonça Sarkis¹, Gabriel Elias de Lima Barros¹, Gabrielly de Souza Correia², Leonardo Luiz Borges^{1,3}

¹ Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

² Centro Universitário de Trindade – UNIFIMES

³ Universidade Estadual de Goiás – UEG

Resumo

Este estudo objetivou apresentar as propriedades químico-biológicas da espécie vegetal *Curcuma longa* L. e detectar as moléculas com possível atividade biológica de interesse. Um levantamento bibliográfico foi realizado para buscar informações a respeito dos marcadores químicos já identificados para esta espécie. Após identificação dessas estruturas, a codificação das moléculas para realização das predições foi obtida no servidor Pubchem para as análises posteriores. A etapa de triagem de bioatividade para os marcadores químicos foi realizada com os programas SwissADME, Swiss Prediction e PASS prediction. Os estudos de interação intermolecular para as moléculas bioativas que melhor se encaixam no farmacóforo foram elaborados através de modelos de interação intermolecular com a estrutura macromolecular. Tendo em vista o objetivo do trabalho, a bisdemetoxicurcumina foi a substância em que as atividades preditas apresentaram maiores probabilidades. No repositório Binding Database, foram investigados os 5 ligantes com menores valores de IC₅₀ (5 moléculas mais potentes) capazes de inibir a ação da enzima ácido graxo sintase. Posteriormente, a molécula bisdemetoxicurcumina foi incorporada a este conjunto e, a partir de análises de agrupamento farmacofórico empregando o servidor PharmaGist, as 6 estruturas compartilharam 3 características espaciais. Esse resultado corrobora a hipótese de que a bisdemetoxicurcumina exerce atividade biológica sobre a enzima ácido graxo sintase (FASN). As características dos metabólitos ativos da *C. longa* permitem inúmeras possibilidades de interações biológicas, podendo implicar em distintas aplicabilidades clínicas. Estudos futuros são necessários para melhor elucidar essas aplicações.

Palavras-Chave: Curcuma; Curcuminoides; Hipolipemiante.

Abstract

This study aimed to present the chemical-biological properties of the *Curcuma longa* Linn. and detect molecules prone to have biological activity of interest. A bibliographic survey was carried out to seek information about chemical markers already identified for this species. After identifying these structures, the coding of molecules to perform the predictions was obtained from the Pubchem server for further analysis. The bioactivity screening step for chemical markers was performed with the SwissADME, Swiss Prediction, and PASS prediction programs. Intermolecular Interaction Studies for the bioactive molecules that best fit the pharmacophore were elaborated through models of intermolecular interaction with the macromolecular structure. Bisdemethoxycurcumin was the substance in which the predicted activities showed the highest probabilities. In the Binding Database repository, the 5 ligands with the lowest IC₅₀ values (5 most potent molecules) capable of inhibiting the action of the fatty acid synthase enzyme were investigated. Subsequently, a bisdemethoxycurcumin molecule was incorporated into this set and, from pharmacophoric cluster analysis using the PharmaGist server, as 6 structures shared 3 spatial characteristics. This result supports the hypothesis that a bisdemetoxicurcumin exerts biological

Contato para correspondência:

Leonardo Luiz Borges

E-mail:

leonardo.cbb@pucgoias.edu.br

Conflito de interesse: Não

Financiamento: Recursos próprios

Recebido: 18/11/2021

Aprovado: 10/12/2021



activity on a fatty acid synthase (FASN) enzyme. The characteristics of the active metabolites of C. longa allow countless possibilities of biological interactions, which may imply different clinical applicability. Future studies are needed to elucidate these applications better.

Keywords: Curcuma; Curcuminoids; Hypolipidemic.

Introdução

Curcuma longa Linn (família Zingiberaceae), conhecida como “açafrão”, é um arbusto perene endêmico da Índia, havendo registros de seu uso desde o século I antes da Era Comum (AEC), embora haja referências à planta em manuscritos gregos do século IV AEC. Esta espécie desenvolveu relação com a expansão da civilização, sendo hoje encontrada apenas em regiões de cultivo humano, sem relato de espécimes crescendo em locais selvagens¹.

A *C. longa* apresenta quantidades adequadas de óleos voláteis, como turmerone, atlantone e zingiber, além de proteínas, açúcares e resinas, todos compostos que podem auxiliar em suas propriedades terapêuticas. A curcumina se caracteriza como um polifenol insolúvel em água e que consegue se manter estável no pH ácido do estômago. A parte do vegetal com maior utilização é o rizoma que pode ser consumido fresco ou seco. Para fins de conservação, esse rizoma é desidratado e moído, gerando um pó de coloração dourada denominado turmérico. A utilização do turmérico remete às primeiras descrições de *C. longa*, e, historicamente, tem aplicação na culinária, medicina e religião. A curcumina é o componente majoritário dos rizomas de *C. longa*, sendo responsável por cerca de 2% do peso seco dos rizomas². Atualmente, a curcumina pode ser obtida comercialmente como uma mistura de três componentes: curcumina (CUR, ~77%); desmetoxicurcumina (DMC, ~17%); e bisdesmetoxicurcumina (BDMC, ~3%)³. Na Índia pode-se encontrar esta mistura de curcuminoides na forma de cápsulas, pomadas, unguentos, cremes e curativos para aplicação tópica, misturada ou não com outros componentes. Contudo, a principal utilização destas substâncias ao redor do mundo é na culinária, como componentes do açafrão-da-índia⁴.

Os compostos presentes no turmérico têm sido utilizados também na medicina ayurvédica há séculos, com diferentes finalidades, sendo as mais notáveis como um composto imunomodulador⁵, hepatoprotetor⁶, antitumoral⁷, antioxidante⁸, anti-inflamatório^{8,9} etc. Entretanto, foi relatado que o principal e mais notável efeito terapêutico desta espécie se deve sobretudo à curcumina, presente em altas concentrações na cúrcuma, garantindo a ela um forte papel anti-inflamatório e, também, antiproliferativo¹⁰. O tipo de efeito apresentado

pela curcumina depende, em parte, da via de administração, de modo que a via oral é a forma mais comum de ingestão, haja vista a sua presença em variados gêneros alimentícios⁴.

Ademais, a *C. longa* é um antiaterogênico por seu potente efeito redutor de triglicérides (TG) e do colesterol¹¹. A redução dos TG pela curcumina foi demonstrada em indivíduos saudáveis que consumiram uma dose baixa dessa substância¹². A curcumina mostrou-se eficaz, também, como um potente inibidor da oxidação do LDL, e seu efeito hipolipemiante foi demonstrado em ratos diabéticos¹³. Além disso, foi visualizado que o açafrão aumentou o nível de HDL sérico em estudos com animais¹⁴.

De modo geral, é possível afirmar que estudos terapêuticos têm revelado o potencial medicinal desta planta. As suas concentrações de componentes antioxidantes, anti-inflamatórios, analgésicos, antifúngicos, antibacterianos e antivirais permitem uma abordagem ampla de *C. longa* em estudos científicos, de modo a correlacionar os seus efeitos terapêuticos com uma gama de condições de saúde onerosas à saúde pública mundial. Atualmente, vários estudos estão em andamento para explorar o impacto farmacológico desta espécie no tratamento da doença de Alzheimer, diabetes, osteoartrite, doença cardiovascular, lesões hepáticas e renais e até mesmo o câncer.

Haja vista as potenciais aplicabilidades clínicas da planta, o presente estudo tem por objetivo apresentar as propriedades químico-biológicas dos marcadores químicos presentes na espécie vegetal *C. longa* e detectar as moléculas com propriedades químicas e estruturais propensas a ter atividade biológica empregando ferramentas *in silico*.

Métodos

Os metabólitos ativos presentes na espécie *C. longa* foram identificados por meio de levantamento bibliográfico para buscar informações a respeito dos marcadores químicos já identificados para esta espécie, lançando mão de bases de dados de artigos científicos, incluindo Pubmed, Scielo, Science-direct e Periódicos Capes. Após identificação dessas estruturas, a codificação das moléculas para realização das predições foi obtida no servidor Pubchem para as análises posteriores¹⁵. A etapa de triagem de bioatividade para os marcadores químicos

foi realizada com os programas SwissADME¹⁶, Swiss Prediction¹⁷ e PASS prediction¹⁸⁻²⁰. A busca por moléculas bioativas foi realizada na base de dados *Binding DB*²¹, utilizada para coletar informações sobre a atividade biológica dos compostos encontrados. As estruturas químicas dos marcadores e de moléculas bioativas identificadas nas etapas anteriores foram modeladas em representações 2D e 3D por meio do programa computacional ACD/ChemSketch Freeware Version (Advanced Chemistry Development, Inc.), gerando os arquivos no formato MDL Molfile para cada molécula.

A respeito da determinação da similaridade farmacofórica, as características químicas das moléculas bioativas foram comparadas com as dos marcadores químicos por meio dos arquivos MDL Molfile gerados. Para tal, utilizou-se a abordagem da modelagem por farmacóforo, através do uso do programa Pharmagist²². O termo farmacóforo é definido como o arranjo espacial de características químicas que permite um grupo de moléculas interagir com um alvo biológico através de um modo de ligação específico²²⁻²⁴.

Os estudos de interação intermolecular para as moléculas bioativas que melhor se encaixam no farmacóforo foram elaborados através de modelos de interação intermolecular com a estrutura macromolecular. Tais modelos podem ser úteis na proposta de elucidar os mecanismos de interação molecular envolvidos no reconhecimento dos marcadores pelas diversas enzimas e receptores encontrados anteriormente.

Resultados

Em um primeiro momento, foi realizada uma revisão da literatura sobre a espécie vegetal *C. longa* e foi visto que existem evidências de atividades antitumoral⁷, anti-inflamatória^{8,9} e hipolipemiante^{11,12}. Os principais compostos encontrados foram curcumim, bisdemetoxicurcumina, α -turmerona, β -turmerona, ar-turmerona, monoterpenos α -felandreno e 1,8-cineol^{25,26}.

Por meio do programa SwissADME²⁷, realizou-se a predição de propriedades farmacocinéticas e procedeu-se a classificação druglikeness, que é a possibilidade do mesmo apresentar absorção pelo trato gastrointestinal e apresentar propriedades semelhantes aos fármacos conhecidos. As estruturas curcumim, bisdemetoxicurcumina, α -turmerona, β -turmerona, ar-turmerona, monoterpenos α -felandreno e 1,8-cineol foram classificadas como *druglike*.

Posteriormente foram realizadas predições pelo servidor PASS Prediction¹⁷, obtendo-se as probabilidades das moléculas apresentarem as atividades descritas ($P_a > 0,7$) (Tab.1). As principais propriedades preditas foram: efeito anti-hipercolesterolêmico, inibição da sintase gordurosa-acil-CoA,

inibição da expressão de H1F1 A, carmativo, anti-inflamatório, antineoplásico, antieczemático e fibrinolítico. Tendo em vista objetivo do trabalho, a bisdemetoxicurcumina foi a substância em que as atividades preditas apresentaram maiores probabilidades, por isso esta estrutura foi selecionada para análise no Pharma Gist.

Tabela 1. Predições realizadas pelo servidor PASS Prediction¹⁷, com obtenção das probabilidades das moléculas apresentarem as atividades descritas ($P_a > 0,7$).

Substâncias	P_a	P_i	Atividade
Curcumina	0,736	0,007	Anti-hipercolesterolêmico
Bisdemetoxicurcumina	0,98	0,002	Inibidor da expressão de H1F1 A
Bisdemetoxicurcumina	0,844	0,004	Inibidor da sintase gordurosa-acil-coA
Bisdemetoxicurcumina	0,733	0,007	Anti-hipercolesterolêmico
Bisdemetoxicurcumina	0,704	0,005	Anti-inflamatório
Alfa-turmerona	0,82	0,003	Carminativo
Alfa-turmerona	0,775	0,014	Inibidor da expressão de H1F1 A
Alfa-turmerona	0,747	0,01	Fibrinolítico
Beta-turmerona	0,859	0,009	Antieczemático
Beta-turmerona	0,817	0,01	Antineoplásico
Ar-turmerona	0,855	0,008	Inibidor da expressão de H1F1 A
Monoterpenos e α -felandreno	0,932	0,001	Carminativo
1,8-cineol	0,777	0,004	Antineoplásico

Legenda: P_a (probabilidade do composto estudado ter atividade biológica descrita, "ser ativo"), P_i (probabilidade do composto estudado não ter atividade biológica descrita, "ser inativo")

No repositório *Binding Database*, foram investigados os 5 ligantes com menores valores de IC_{50} (5 moléculas mais potentes) capazes de inibir a ação da enzima ácido graxo sintase. Posteriormente, a molécula bisdemetoxicurcumina foi incorporada a este conjunto e, a partir de análises de agrupamento farmacofórico empregando o servidor PharmaGist, as 6 estruturas compartilharam 3 características espaciais (Fig. 2). Esse resultado corrobora a hipótese de que a bisdemetoxicurcumina exerce atividade biológica sobre a enzima ácido graxo sintase (FASN).

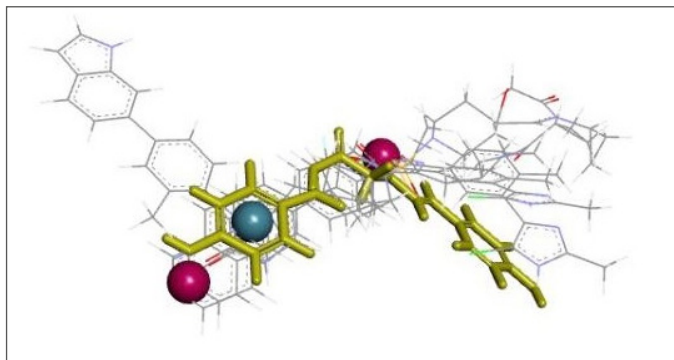


Figura 2. Análise do compartilhamento de grupos farmacofóricos. Bolas em vermelho representam os grupamentos que fazem ligação de hidrogênio. O anel aromático está representado pela bola azul.

Discussão

O levantamento de metabólitos ativos da *C. longa*, com suas respectivas propriedades físico-químicas, classificação *druglike*, predição de toxicidade, predição da sua atividade anti-hipercolesterolêmica e anti-inflamatória, permitiu a escolha da bisdemetoxicurcumina, a qual apresentou melhores pontuações em todas essas análises, com maior potencial para exercer atividade biológica sobre a enzima ácido graxo sintase.

A bisdemetoxicurcumina, neste estudo, comportou-se como um ligante na estrutura da enzima ácido graxo sintase, permitindo inferir a possível ação anti-hipercolesterolêmica relatada pelo servidor PASS Prediction¹⁷ e também ser responsável pela ação hipolipemiante da *Curcuma* sp. L. discutida em estudos prévios¹¹⁻¹⁴. Para corroborar essa hipótese, no *Binding Database*, foram investigadas 5 moléculas mais potentes capazes de inibir a ação da enzima ácido graxo sintase e, ao se comparar as estruturas dessas moléculas à da bisdemetoxicurcumina, 3 características espaciais foram compartilhadas. A enzima ácido graxo sintase é a principal enzima na biossíntese de ácidos graxos. Sua atividade baseia-se na oferta de fosfolípídeos estruturais para as membranas celulares, favorecendo a sua multiplicação. Assim, a inibição dessa enzima, interfere diretamente no metabolismo lipídico, reduzindo a produção desses compostos²⁸.

Além dos efeitos anti-hipercolesterolêmico, a bisdemetoxicurcumina apresentou também efeito anti-inflamatório prevista pelo Servidor PASS Prediction e evidenciada em estudo recente^{17,29}. A BDMC, por ser um dos componentes da mistura comercial da curcumina³, tem contribuição direta na ação contra inflamação dos derivados da *C. longa*. O mecanismo de ação anti-inflamatório age na cascata do ácido araquidônico, também conhecida como cascata da inflamação, inibindo as moléculas envolvidas no processo inflamatório. Essa inibição

envolve mecanismos modulatórios de diversos fenômenos biológicos que interferem nas ativações celulares e nos sinalizadores moleculares, o que tem como efeito final a redução da atividade inflamatória^{2,30}.

Por fim, outro efeito relevante da BDMC é o de inibição do fator indutor de hipóxia 1-alfa (HIF-1 α). A hipóxia é uma condição sempre presente no ambiente tumoral devido ao rápido crescimento das células tumorais não suportado por um suprimento sanguíneo adequado. Há evidências crescentes de que a hipóxia desempenha um papel importante na dormência e no metabolismo do câncer, aumentando a atividade da haste e provocando o início e a progressão do câncer. Essa condição pode influenciar a produção do fator indutível por hipóxia (HIF), um fator de transcrição de hélice que está envolvido na carcinogênese e no crescimento do tumor por meio da regulação de genes envolvidos na angiogênese, metabolismo glicolítico e outros mecanismos biológicos, que aumentam de chance de sobrevivência da célula cancerígena mesmo sobre condições de privação de oxigênio^{31,32}. Portanto, a bisdemetoxicurcumina, ao inibir a HIF-1 α , evitaria a progressão da neoplasia.

Conclusão

Dentre os principais compostos presentes na *C. longa*, a BDMC demonstrou ser a molécula com a maior probabilidade de exercer efeitos biológicos sobre a enzima ácido graxo sintase, tendo em vista os parâmetros e predições preconizados para este estudo. Além das ações hipolipemiante e anti-hipercolesterolêmica possibilitadas por essa interação farmacodinâmica, a BDMC também demonstrou potencial anti-inflamatório e propriedades anti-neoplásicas, o que corrobora achados de estudos analíticos e experimentais prévios. As características físico-químicas e estruturais dos metabólitos ativos da *C. longa* permitem inúmeras possibilidades de interações biológicas, podendo implicar em distintas aplicabilidades clínicas para esses compostos. Testes biológicos futuros com a molécula isolada são necessários, visando encontrar um novo candidato a fármaco hipolipemiante.

Referências

1. Dalby A. Dangerous tastes: the story of spices. 1st ed. Oakland: University of California Press; 2001.
2. Sueth-Santiago V, Mendes-Silva GP, Decoté-Ricardo D, Lima MEF de. Curcumin, the golden powder from turmeric: insights into chemical and biological activities. Quim Nova [Internet]. 2015; 38(4):538-552.
3. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": From kitchen to clinic. Biochem Pharmacol. 2008; 75(4):787-809.

4. Carneiro DM. Ayurveda: Saúde e Longevidade na Tradição Milenar da Índia [Internet]. 1st ed. São Paulo: Pensamento; 2014.
5. Mollazadeh S, Shamsara J, Iman M, Hadizadeh F. Docking and QSAR Studies of 1,4-Dihydropyridine Derivatives as Anti-Cancer Agent. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*. 2017; 12(2):174-185.
6. Momtazi AA, Shahabipour F, Khatibi S, Johnston TP, Pirro M, Sahebkar A. Curcumin as a MicroRNA regulator in cancer: A review. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 2016; 171:1-38.
7. Iranshahi M, Sahebkar A, Hosseini ST, Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H. Cancer chemopreventive activity of diversin from *Ferula diversivittata* in vitro and in vivo. *Phytomedicine*. 2010; 17(3-4):269-273.
8. Sahebkar A. Why it is necessary to translate curcumin into clinical practice for the prevention and treatment of metabolic syndrome? *BioFactors*. 2013; 39(2):197-208.
9. Panahi Y, Sahebkar A, Amiri M, Davoudi SM, Beiraghdar F, Hoseininejad SL, et al. Improvement of sulphur mustard-induced chronic pruritus, quality of life and antioxidant status by curcumin: Results of a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr*. 2012; 108(7):1272-9.
10. Sultana S, Munir N, Mahmood Z, Riaz M, Akram M, Rebezov M, et al. Molecular targets for the management of cancer using *Curcuma longa* Linn. phytoconstituents: A Review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021; 135:111078.
11. Olszanecki R, Jawień J, Gajda M, Mateuszuk L, Gebaska A, Korabiowska M, et al. Effect of curcumin on atherosclerosis in apoE/LDLR-double knockout mice. *J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2005 Dec; 56(4):627-35.
12. Disilvestro RA, Joseph E, Zhao S, Bomser J. Diverse effects of a low dose supplement of lipidated curcumin in healthy middle aged people. *Nutr J*. 2012; 11:79.
13. Ramírez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baró L, Ramirez-Tortosa CL, et al. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1999; 147(2):371-8.
14. Suresh Babu P, Srinivasan K. Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 1997; 166(1-2):169-75.
15. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2019 update : improved access to chemical data. 2019; 47(October 2018):1102-9.
16. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* [Internet]. 2017 May 3; 7(1):42717.
17. Lagunin A, Stepanchikova A, Filimonov D, Poroikov V. PASS: Prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics*. 2000; 16(8):747-8.
18. Poroikov V V, Filimonov DA. How to acquire new biological activities in old compounds by computer prediction. *J Comput Aided Mol Des* [Internet]. 2002 Nov; 16(11):819-24.
19. Poroikov VV, Filimonov DA, Borodina YV, Lagunin AA, Kos A. Robustness of biological activity spectra predicting by computer program PASS for noncongeneric sets of chemical compounds. *J Chem Inf Comput Sci* [Internet]. 2000; 40(6):1349-55.
20. Sady M, Lagunin A, Filimonov D, Poroikov V. Prediction of biological activity spectra via the Internet. *SAR QSAR Environ Res* [Internet]. 2003; 14(5-6):339-47.
21. Liu T, Lin Y, Wen X, Jorissen RN, Gilson MK. BindingDB: A web-accessible database of experimentally determined protein-ligand binding affinities. *Nucleic Acids Res*. 2007; 35(Database issue):D198-201.
22. Schneidman-Duhovny D, Dror O, Inbar Y, Nussinov R, Wolfson HJ. PharmaGist: a webserver for ligand-based pharmacophore detection. *Nucleic Acids Res*. 2008; 36(Web Server issue):W223-8.
23. Sheng-Yong Y. Pharmacophore modeling and applications in drug discovery: challenges and recent advances. *Drug Discov Today*. 2010; 15(11-12):444-50.
24. Wolber G, Seidel T, Bendix F, Langer T. Molecule-pharmacophore superpositioning and pattern matching in computational drug design. *Drug Discovery Today*. 2008; 13(1-2):23-9.
25. Pal K, Chowdhury S, Kumar S, Chakraborty S, Chakraborty M, Kumar G, et al. Analysis of rhizome colour content, bioactive compound profiling and ex-situ conservation of turmeric genotypes (*Curcuma longa* L.) from sub-Himalayan terai region of India. *Ind Crop Prod* [Internet]. 2020; 150(December 2019):112401.
26. Brado G, Dias F, Souza D, Marina R, Andr P, Brugnari T, et al. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food Control*. 2017; 73:806-13.
27. Lipinski CA. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2000; 44(1):235-49.

28. Fhu CW, Ali A. Fatty Acid Synthase: An Emerging Target in Cancer. *Molecules* [Internet]. 2020 Aug 28; 25(17).
29. Jin F, Chen X, Yan H, Xu Z, Yang B, Luo P, et al. Bisdemethoxycurcumin attenuates cisplatin-induced renal injury through anti-apoptosis, anti-oxidant and anti-inflammatory. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2020 May; 874:173026.
30. Marchi JP, Tedesco L, Melo ADC, Frasson AC, França VF, Wietzikoski Sato S, et al. Curcuma longa L., o açafrão da terra, e seus benefícios medicinais. *Arq Ciências da Saúde da UNIPAR* [Internet]. 2016 Mar 30; 20(3).
31. Pezzuto A, Carico E. Role of HIF-1 in Cancer Progression: Novel Insights. A Review. *Curr Mol Med* [Internet]. 2019 Jan 10; 18(6):343–51.
32. Lequeux A, Noman MZ, Xiao M, Van Moer K, Hasmmim M, Benoit A, et al. Targeting HIF-1 alpha transcriptional activity drives cytotoxic immune effector cells into melanoma and improves combination immunotherapy. *Oncogene* [Internet]. 2021 Jul 15; 40(28):4725–35.

Prevalência do uso de drogas de abuso por policiais militares do estado de Goiás no período de 2016 a 2021

Prevalence of drug use of abuse by military police of the state of Goiás in the period from 2016 to 2021

Grazielli Lisboa da Silva Schimidt¹, Anna Caroliny Souza Silva¹, Jessica Cristina Santos de Oliveira¹, Vania Cristina Rodriguez Salazar^{1,2}

¹ Faculdade da Polícia Militar – FPM

² Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

Resumo

O uso de drogas lícitas e ilícitas é certamente um problema de cunho social. Existem inúmeros motivos pelos quais uma pessoa começa a fazer uso dessas substâncias, dentre elas: frustrações, curiosidade, experiências agradáveis, “criativas”, “viajar”, escapar de problemas, entre outros. Normalmente esse contato inicial com as drogas ocorre pela dificuldade de enfrentar as diferentes situações do cotidiano. Nesse contexto, diversas classes profissionais que vivenciam um cotidiano estressante, enveredam por este caminho, dentre elas, os policiais militares. Dessa forma, o objetivo deste artigo foi realizar um levantamento dos resultados de exames toxicológicos obtidos em um hospital de atendimento ao policial militar do Estado de Goiás no período de 2016 a 2021. Esse levantamento foi realizado através de análise toxicológica em 632 amostras de urina, submetidas a testes imunocromatográficos qualitativos. Foram pesquisadas 12 drogas e/ou metabólitos, das quais: anfetaminas, metanfetaminas, cocaína, tetrahidrocanabinol, benzodiazepinas, morfina, metilenedioximetanfetamina, propoxifeno, antidepressivos tricíclicos, fenciclidina, barbitúricos e metadona. Os resultados obtidos foram: das 632 amostras analisadas, a maioria delas (628) foram de policiais do gênero masculino com faixa etária entre 20 e 35, a prevalência de drogas foi de 28 amostras positivas (4,4%), sendo que as drogas de abuso mais encontradas foram: benzodiazepínicos, maconha, cocaína, opiáceos e antidepressivos havendo associação no uso dessas drogas em alguns casos. Esses dados mostram a necessidade de políticas específicas de controle e prevenção ao consumo de drogas.

Palavras-Chave: Drogas de Abuso; Urina; Policiais militares; Imunocromatografia.

Abstract

The use of licit and illicit drugs is certainly a social problem. There are numerous reasons why a person begins to use these substances, among them: frustrations, curiosity, pleasant, "creative" experiences, "travel", escape from trouble, among others. Usually, this initial contact with drugs occurs due to the difficulty of facing the different everyday situations. In this context, several professional classes that experience a stressful daily life, go down this path, among them, the military police. Thus, the aim of this article was to perform a survey of the results of toxicological tests obtained in a hospital for the care of the military police officer of the State of Goiás in the period from 2016 to 2021. This survey was performed through toxicological analysis in 632 urine samples submitted to qualitative immunochromatographic tests. Twenty drugs and/or metabolites were surveyed: amphetamines, methamphetamines, cocaine, tetrahydrocannabinol, benzodiazepines, morphine, methylenedioxymethamphetamine, propoxifene, tricyclic antidepressants, phencyclidine, barbiturates and methadone. The results obtained were: of the 632 samples analyzed, most of them (628) were male police officers aged between 20 and 35, the prevalence of drugs was 28 positive samples (4.4%), and the most common abuse drugs were: benzodiazepines, marijuana, cocaine, opiates and antidepressants, and there was an association in the use of these drugs in some cases. It was concluded that there was an increase in the use of licit psychoactive substances by the police class, thus requiring specific policies for control and prevention of drug use.

Keywords: Drug Abuse; Urine; Military police; Immunochromatography.

Contato para correspondência:

Anna Caroliny Souza Silva

E-mail:

anna.silva@faculdadepm.edu.br

Conflito de interesse:

Não

Financiamento:

Recursos próprios

Recebido: 19/11/2021

Aprovado: 15/12/2021



Introdução

A prática do uso abusivo de psicotrópicos trata-se de um grave problema de saúde pública¹. Para a Organização Mundial de Saúde (OMS), substâncias que agem no Sistema Nervoso Central (SNC) e produzem alterações comportamentais, humorais e cognitivas são consideradas psicotrópicas ou psicoativas². De acordo com o efeito que as substâncias psicotrópicas provocam no SNC, elas dividem-se em três diferentes grupos, podendo ser depressoras, estimulantes e perturbadoras³.

Segundo a OMS, independentemente de fatores sociais como idade, sexo e nível de instrução, cerca de 10% da população no mundo consomem este tipo de substância de forma abusiva, seja como drogas ilícitas ou lícitas⁴. Dentre as substâncias psicoativas lícitas estão os medicamentos utilizados no combate à: ansiedade, depressão, angústia, insônia e agitação⁵. O consumo exacerbado dessas substâncias é uma preocupação de âmbito mundial, uma vez que causa grande impacto social e econômico⁶.

De acordo com o Relatório Mundial sobre Drogas, em 2012, 1% dos óbitos de adultos são causados pelo consumo de drogas ilícitas. Dentre as drogas ilícitas mais utilizadas no mundo está a *Cannabis* (com uma taxa de prevalência anual de 2,6% a 5,0%) e estimulantes do tipo anfetamina (excluindo ecstasy), com taxa de 0,3% a 1,2%. Com relação às drogas lícitas, na população adulta mundial, a prevalência do consumo de tabaco é de 25% e a de álcool é de 42%, ambas as drogas apresentam uma prevalência cinco e oito vezes maior do que o uso de drogas ilícitas (com 5,0% de prevalência), respectivamente⁷.

Os dados de um levantamento mais recente do Relatório Mundial sobre Drogas, em 2020, mostram que cerca de 269 milhões de pessoas usaram drogas no mundo em 2018 com um aumento de 30% em comparação a 2009. Com relação ao consumo de drogas no Brasil, a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e parceiros, realizaram, em 2017, o 3º Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira, compreendendo as capitais de todas as regiões do país (Norte, Nordeste, Sudeste, Sul, Centro-Oeste), onde estimou-se a prevalência de: 1. Pessoas que fazem uso de maconha regularmente, 3,1%; 2. Pessoas que somente fazem uso de substâncias ilícitas, sendo: haxixe ou skank (derivados da planta *Cannabis*), cocaína em pó, crack e similares (merla, pasta base e oxil), solventes, ecstasy, ayahuasca, dietilamida do ácido lisérgico (LSD), quetamina e heroína 1,9%; 3. Pessoas que somente fazem uso de crack e/ou similares 1,1%⁸. Esses dados impactam de forma significativa em vários aspectos sociais, como saúde e segurança pública.

Sabe-se que algumas populações estão mais sujeitas a essa prática, como por exemplo, pessoas em situação de rua que, devido à sua vulnerabilidade, geralmente acabam fazendo uso abusivo de álcool e drogas ilícitas. Outros fatores como, ocorrência

de desordem mental, círculo familiar enfraquecido e falta de escolaridade podem acabar aumentando essa reincidência ao uso¹⁰. A classe adolescente é uma das classes que mais está sujeita ao uso de drogas, por diversas motivações, como busca por diversão, curiosidade, necessidade de pertencer a um determinado grupo social, alívio do tédio, relaxamento e problemas pessoais¹¹.

Outra classe da população que também é muito atingida pelo uso de substâncias psicoativas (SPA), é a dos profissionais da saúde, dentre eles, os enfermeiros. Acerca dos fatores desencadeadores, encontram-se as condições de trabalho em situações de extremo estresse¹². Além disso, 70,5% dos enfermeiros entrevistados em um estudo efetuado num Hospital da cidade do Paraná fizeram uso de psicofármacos e desse percentual, 44% se automedicavam com a justificativa de ter fácil acesso ao medicamento¹³. Em relação a esse fácil acesso à droga, Badora et al., realizaram um estudo em Atlanta, no período de 2002 a 2007, onde foi relatado por um dos 112 entrevistados, usuários de ecstasy, que o acesso para obtenção desses medicamentos é de tamanha facilidade, comparando a compra com um pacote de batatas fritas¹⁴. Há de se apontar, ainda, a classe policial que, também, é bastante acometida e como qualquer organização civil, não está isenta das adversidades relacionadas à prática do uso abusivo de substâncias psicoativas^{15,16}.

No Brasil, a consequência do uso de substâncias psicotrópicas lícitas e ilícitas nos indicadores de mortalidade e morbidade da população é muito relevante. Isso apesar de que o número de registros de mortes causadas pelo uso abusivo da maioria dessas substâncias seja ainda muito pequeno, pois geralmente não se correlacionam patologias próprias do consumo excessivo de drogas como causa de morte. Em 2007, a taxa de mortalidade brasileira relacionada ao uso de drogas foi de 4,3 por 100.000 habitantes (90% das mortes foram relacionadas ao alcoolismo), dita taxa foi maior do que alguns países como Argentina 1,9; Chile 2,3; Estados Unidos 2,4, e menor do que outros países como França 5,6; Alemanha 6,2; Rússia 5,8¹⁷. Ainda assim, são relativamente poucos os estudos mostrando a realidade do uso de substâncias psicotrópicas no Brasil, principalmente, no que tange às profissões, sobretudo, direcionados à classe policial.

Dessa forma, o objetivo deste artigo foi realizar um levantamento dos resultados de exames toxicológicos obtidos em um hospital de atendimento ao policial militar do Estado de Goiás no período de junho de 2016 a janeiro de 2021.

Métodos

Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo transversal, no qual foi realizado um levantamento de dados secundários, tais como gênero, idade e

resultado da análise toxicológica de amostras de urina do banco de dados do laboratório do Policial Militar do Estado de Goiás.

Considerações Éticas

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa do hospital e maternidade Dona Íris com número de parecer 3.823.710 e CAAE 25742719.1.0000.8058.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada no programa Microsoft Office Excel®, versão 2010.

População estudada

Foram analisadas um total de 632 amostras de urina de militares da ativa, integrantes do quadro de servidores da polícia militar do Estado de Goiás, no período de junho de 2016 a janeiro de 2021.

Análise de urina

As amostras de urina foram coletadas em recipientes limpos e secos, de plástico ou vidro, sem conservantes. Refrigeradas entre 2°C e 8°C e armazenadas por até 48 horas. Amostras com precipitado visível foram filtradas, centrifugadas ou colocadas em repouso para a obtenção de um sobrenadante límpido.

Para a análise toxicológica da urina, foi utilizado o teste rápido de triagem para identificação de drogas de abuso, denominado *Multi Drogas Rapid Test* (12 drogas) marca ABON®.

Vale ressaltar que, embora o teste seja muito preciso, existe possibilidade de resultados falsos devido à presença de substâncias interferentes na urina. As amostras caracterizadas como positivas não foram enviadas para análise confirmatória, pois a realização das mesmas, foi em razão de se obter informações para serem usadas pela junta médica da corporação. Entretanto, todas as amostras positivas foram devidamente armazenadas, caso fosse solicitado para confirmações médicas ou pedidos judiciais.

Resultados

Os dados das 632 amostras biológicas de urina foram tabulados e analisados para obtenção de dados sociodemográficos e de prevalência do uso de drogas de abuso por policiais militares do Estado de Goiás.

O primeiro parâmetro avaliado nas amostras foi o gênero, sendo que das 632 amostras analisadas no período estudado, 628 (99,4%) foram provenientes de policiais do gênero masculino e 4 (0,6%) do gênero feminino.

A segunda variável estudada foi a idade dos policiais, estratificada em três grupos: 20-25 anos, 26-34 anos e >35

anos. Dentre as 3 faixas etárias analisadas, a maior foi de 26-34 anos, com 376 amostras do gênero masculino e 3 amostras do gênero feminino, totalizando 379 amostras, nessa faixa etária.

A tabela 1 mostra os dados obtidos referentes ao gênero e à idade dos policiais militares que fizeram parte do estudo.

Tabela 1. Idade e gênero de policiais militares que participaram da pesquisa sobre drogas de abuso no Estado de Goiás durante o período de junho de 2016 a janeiro de 2021. (N = número de policiais. % = porcentagem de policiais em cada faixa etária).

Faixas etárias (anos)	Gênero					
	Masculino		Feminino		Total	
	N	%	N	%	N	%
20 - 25	69	10,9	0	0,0	69	11,0
26 - 34	376	59,8	3	75,0	379	60,0
≥ 35	183	29,1	1	25,0	184	29,1
Total	628	100	4	100	632	100

Na tabela 2 são apresentados os resultados obtidos referentes ao número de exames toxicológicos que deram positivo para uma ou mais drogas testadas por ano. Ao todo, no período estudado de 2016 a 2021, 28 amostras foram encontradas positivas (4,4%) para uma ou mais drogas. Com relação ao número de exames realizados por ano, em 2016, foram realizados 27 exames (4,3%); em 2017, 144 exames (22,8%); em 2018, 299 exames (47,3%); em 2019, 149 exames (23,6%); em 2020, 10 exames (1,6%) e 3 exames (0,5%) até a data final do estudo, em janeiro de 2021, considerando o total de amostras positivas e negativas.

Tabela 2. Frequência de resultados das 28 amostras positivas detectadas pelo teste rápido de triagem que foi utilizado para analisar amostras de urina de policiais militares do Estado de Goiás durante o período de junho de 2016 a janeiro de 2021.

Drogas Psicoativas	Ano							
	2016		2017		2018		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Positivas								
Cocaína	5	35,7	0	0,0	0	0,0	5	17,9
Opiáceos	0	0,0	1	16,6	2	25,0	3	10,8
Maconha	1	7,1	1	16,6	3	37,5	5	17,9
Antidepressivos	0	0,0	1	16,6	0	0,0	1	3,6
Benzodiazepínicos	8	57,1	3	50,0	3	37,5	14	50,0
Total	14	100	6	100	8	100	28	100

A figura 1 evidencia o número de resultados positivos, anualmente, das amostras de urinas de policiais militares do Estado de Goiás. No período analisado, observou-se resultados positivos para substâncias psicotrópicas somente nos anos de 2016, 2017 e 2018. No ano de 2016 houve um total de 14 amostras positivas, sendo esse, o ano com maior prevalência de amostras positivas; 2017 com 6 amostras positivas; e 2018 com 8 amostras positivas.

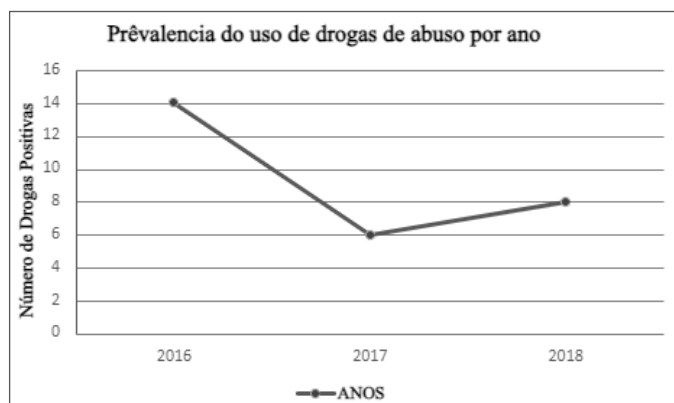


Figura 1. Frequência anual dos resultados positivos para substâncias psicotrópicas após análise com realização de teste imunocromatográfico em amostras de urinas de policiais militares no Estado de Goiás no período de junho de 2016 a janeiro de 2021.

Na figura 2 são demonstradas as cinco drogas mais comumente encontradas nas amostras de urina analisadas pelo teste imunocromatográfico *Multi Drogas Rapid Test*. Sendo que os benzodiazepínicos apresentaram uma prevalência de 50,0%, cocaína 17,9%, maconha 17,9%, opiáceos 10,8% e antidepressivos 3,6%.

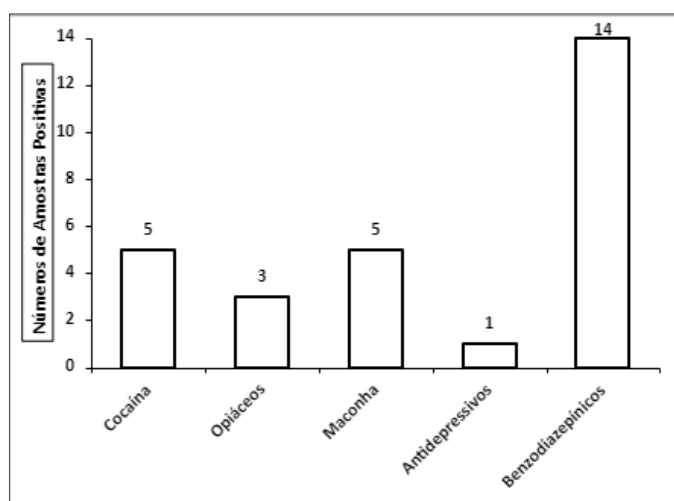


Figura 2. Drogas mais comuns encontradas nas amostras de urina de policiais militares do Estado de Goiás analisadas no período de junho de 2016 a janeiro de 2021.

Foram encontradas quatro amostras positivas para mais de uma droga, correspondendo a 14,9% do total de amostras positivas, dentre as drogas encontradas simultaneamente estão: Cocaína, Benzodiazepínicos e Maconha, todas identificadas no ano de 2016. O uso dessas drogas foi correlacionado da seguinte maneira: primeira e segunda amostra: benzodiazepínicos e cocaína. Terceira amostra: benzodiazepínicos, cocaína e maconha. Quarta e última amostra: benzodiazepínicos e cocaína.

Discussão

O presente estudo baseado em um levantamento de dados referentes ao período de junho de 2016 a janeiro de 2021, analisou a prevalência do uso de psicotrópicos por policiais militares do Estado de Goiás, atendidos no Hospital do Policial Militar (HPM), sendo obtida uma prevalência de amostras positivas de 4,4% (n=28) no período estudado.

É importante ressaltar que, neste estudo, foram analisados dois parâmetros: gênero e idade. Como se pode ver, há uma quantidade inferior de amostras pertencentes a policiais do gênero feminino (0,6%), quando comparada a policiais do gênero masculino (99,4%), de um total de 632 amostras, apenas quatro amostras são do gênero feminino e, dentre estas, nenhuma foi positiva para alguma das drogas analisadas.

O possível motivo desta quantidade inferior pode estar relacionado ao número de vagas reservadas para ambos os gêneros nos editais de concurso público do Estado de Goiás para ingresso na Polícia Militar, em que apenas 10% do total de vagas é destinada para o gênero feminino. Tendo como base os dois últimos editais, o mais antigo divulgado em 17 de outubro de 2012, com 1.050 vagas para Soldado de 2º classe e, desse total, 105 (10%) vagas eram reservadas para pessoas do gênero feminino e 945 (90%) para o gênero masculino¹⁸. O edital mais recente e último, até a presente data, foi divulgado em 06 de setembro de 2016 visando o provimento de 2.420 vagas para o cargo de Soldado de 3ª Classe, onde apenas 242 (10%) foram ofertadas para o gênero feminino e o restante de 2.178 para o gênero masculino (90%)¹⁹.

Em outras corporações, como a Polícia Militar do Estado de São Paulo, não há essa restrição em seus editais. De acordo com os quatro últimos editais em 2017, 2018, 2019 e 2021 para provimento dos cargos de Soldado PM do Quadro de Praças de Polícia Militar (QPPM), o número total de vagas foram destinadas a candidatos do gênero masculino e feminino, sem distinção²⁰⁻²³. Os maiores pontuadores são classificados independentemente do gênero. Em 2013, a revista "Mulheres na Segurança Pública" destacou que, a partir de 1970, as mulheres começaram a fazer parte dessa perspectiva relativamente

predominante do gênero masculino, ingressando no quadro de Policiais Militares do Estado de São Paulo e, a partir desse marco, foram incorporadas também nas demais unidades da federação, para compor o sistema de segurança pública²⁴.

Um relatório de 2020 (Ano-base 2018) realizado pela Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP), sobre a Pesquisa Perfil das Instituições de Segurança Pública (PISP), mostrou em um levantamento o efetivo da Polícia Militar por gênero masculino e feminino de 27 Estados do Brasil, sendo que o gênero feminino ainda é minoria. Esses autores mostram que, a maior diferença se localiza no Rio Grande do Norte, onde as mulheres representam apenas 3% (178) do total do efetivo, em seguida está o Acre com apenas 10% (299) do efetivo formado por pessoas do gênero feminino. Infelizmente, informações sobre o Estado de Goiás constam como dado não informado²⁵.

Já no parâmetro idade, observou-se no presente estudo que a faixa etária predominante encontra-se entre 26 e 34 anos (59,8%). De acordo com o II Levantamento Domiciliar realizado em 2005, evidenciou-se que 5,3% de 1.680 entrevistados que possuem entre 25 e 34 anos já realizaram o uso de benzodiazepínicos ao longo da vida²⁶. Outro estudo realizado no mesmo ano afirma que este uso elevado se dá devido aos distúrbios de sono e ansiedade que se tornam mais presentes nessa faixa etária, além de outros fatores relacionados ao cotidiano, que também influenciam de forma direta para este uso²⁷.

Dentro da carreira militar isso não é diferente, é de conhecimento geral que a vida policial causa desgastes físicos e psicológicos devido aos riscos iminentes vividos diariamente durante o exercício de suas funções, o que, conseqüentemente, os leva a vivenciarem constantemente conflitos emocionais em crises com pouca possibilidade de controle²⁸⁻³¹. Por lidarem com muitas adversidades, os policiais se tornam susceptíveis a altos níveis de estresse, levando-os a uma diversidade de sentimentos conflitantes, uma vez que estes devem manter o equilíbrio emocional para cumprirem suas obrigações de maneira racional visando à preservação da segurança pública e também a sua integridade física³²⁻³⁵.

O uso de substâncias psicoativas, acarreta a urgência de controle estrito e adequado contra as mesmas, no consumo pela classe militar que acaba levando à dependência e à destruição, tanto da classe como da humanidade no geral^{36,37}.

Em 2013, uma pesquisa realizada em Cuiabá e Várzea Grande concluiu que 8,9% de 237 policiais, que responderam ao questionário, já realizaram o uso de substâncias psicotrópicas na vida. O mesmo estudo afirmou que isso se dá devido ao grande desgaste causado pela profissão³⁸. No ano de 2008, outro estudo realizado com 299 policiais do Estado de Goiás, através de um teste de triagem imunocromatográfico, apre-

sentou uma frequência de 2,3% de amostras positivas, sendo os seguintes percentuais: 0,3% para anfetaminas; 0,7% para canabinoides e 1,3% para benzodiazepínicos³⁹.

Através da mesma metodologia, nosso estudo apresentou um dado superior ao de Nascente et al, com uma frequência de 4,4% de amostras positivas em 632 policiais analisados. Dessa forma, é possível observar que, apesar de não possuir muitos estudos sobre o presente assunto, é notória a presença do uso de substâncias psicotrópicas entre Policiais Militares e também um aumento gradativo desse uso.

De acordo com o Levantamento Domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil, realizado nos anos de 2001 e 2005, a região Centro-oeste do país apresentou um aumento de 2,7% para 3,6% de uso na vida de benzodiazepínicos⁴⁰. Em 2008, o estudo anteriormente citado, realizado nas cidades de Goiânia e Aparecida de Goiânia apresentou uma prevalência de 1,3% de amostras positivas para o uso de benzodiazepínicos por Policiais Militares⁴¹. De acordo com o exposto, esse dado é inferior ao do presente estudo, em que 2,2% das amostras analisadas foram positivas para benzodiazepínicos por militares. Em ambos os estudos, foi possível observar que a prevalência do uso de benzodiazepínicos está em maior porcentagem de amostras positivas na vida policial com um aumento gradativo e significativo.

No presente estudo verificou-se que a droga utilizada com maior frequência foi a classe de benzodiazepínicos com uma prevalência de 2,2%, que constitui o grupo de psicotrópicos mais comumente utilizado na prática clínica, devido as suas quatro atividades principais: ansiolítica, hipnótica, anticonvulsivante e relaxante muscular. Embora tal substância, aparentemente, seja de um grupo de substâncias que quando utilizadas de forma correta, pode ajudar bastante no tratamento psicológico, por outro lado, quando utilizadas em excesso podem provocar efeito paradoxal, devendo tal uso ser acompanhado com muita cautela, principalmente na classe militar. Essa categoria profissional, é portadora de armamento e o uso indiscriminado de drogas pode trazer situações de risco tanto para sua própria segurança, quanto para a segurança dos que estão ao redor.

Conclusão

Pode-se concluir, a partir dos resultados obtidos no presente estudo, que foi possível delimitar a prevalência do uso de drogas de abuso em policiais militares, integrantes do quadro de segurança pública do Estado de Goiás. A partir do levantamento realizado, pode-se constatar que a maioria dos policiais participantes foi do gênero masculino. Dentre as 28 amostras positivas encontradas, a prevalência de uso mais

comum foi para benzodiazepínicos. Considerando dessa forma ser possível correlacionar os diversos fatores estressantes da rotina desses profissionais com o uso elevado dessa classe de medicamentos.

Não obstante, podemos perceber que não existe uma quantidade significativa de estudos sobre o uso de drogas de abuso por policiais militares no Estado de Goiás, contudo, não deixa de ser uma temática importante. Enfatizamos que seria de grande valia a implantação de exames para a detecção do uso de drogas no programa já existente do centro de saúde integral do policial militar (CSIPM), avaliando, anualmente, o estado clínico desses servidores, zelando pela saúde clínica, física e psicológica e com o intuito de ajudar a minimizar as práticas de tal uso.

Referências

1. Martello S, Fett CA. Uso de drogas psicotrópicas por Policiais Militares de Cuiabá e Várzea Grande. *Homens Do Mato - Revista Científica de Pesquisa em Segurança Pública*. 2013;11:1-20.
2. Organización Mundial de la Salud. *Guia de la buena prescripción*. Ginebra: OMS, 1994.
3. Martello S, Fett CA. Uso de drogas psicotrópicas por Policiais Militares de Cuiabá e Várzea Grande. *Homens Do Mato - Revista Científica de Pesquisa em Segurança Pública*. 2013;11:1-20.
4. Organização Mundial de Saúde. *Relatório sobre A saúde no mundo 2001: saúde mental: nova concepção, nova esperança*. Ginebra: 2001. 135p
5. Centro Brasileiro de Informação de Medicamentos Psicotrópicos (Cebrim) - Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Departamento de Psicofarmacologia. *Haja ansiedade. Haja insônia*. Bol. CEBRID, N. 47, Jan./Mar. 2003
6. Lucas ACS, Parente RCP, Picanço NS, Conceição DA, Costa KRC, Magalhães IRS, Siqueira JCA. Uso De Psicotrópicos entre Universitários da Área de saúde da Universidade Federal do Amazonas, Brasil. *Cad Saude Publica* 2006; 22(3):663-671.
7. Escritório das Nações Unidas sobre drogas e Crime (UNODC). *Relatório Mundial sobre Drogas*. Eua: Unodc; 2012.
8. United Nations Office On Drugs And Crime (UNODOC). *Relatório Mundial Sobre Drogas 2020: Consumo Global De Drogas Aumenta, Enquanto COVID-19 Impacta Mercados*, Aponta Relatório [Internet]. Viena, 25 De Junho De 2020 [atualizado em 2020 jun. 25; citado em 2021 out. 19]. Disponível em: www.unodc.org.
9. Bastos FIPM, et al. (Org.). *III Levantamento Nacional Sobre O Uso De Drogas Pela População Brasileira*. Rio De Janeiro: FIOCRUZ/ICICT, 2017. 528.
10. Andrade LP, Costa SL, Marquetti FC. A Rua Tem Um Imã, Acho Que É Liberdade: Potência, Sofrimento E Estratégias De Vida Entre Moradores De Rua Na Cidade De Santos, No Litoral Do Estado De São Paulo. *Saúde Soc*. 2014 Oct; 23:1248-1261.
11. Rodriguez VMR, Scherer ZAP. *Motivação Do Estudante Universitário Para O Consumo De Drogas Legais*. Latino-am 2008 Jun;16(spe): 572.
12. Fernandes MA, Silva JSE, Vilarinho JOV, Seabra LO, Feitosa CDA. Uso de substâncias psicoativas por profissionais de saúde: revisão integrativa. *SMAD Revista Eletrônica Saúde Mental Álcool E Drogas*. 2018;13(4): 221-231.
13. Vieira GCG, Brida RL, Macuch RS, Massuda EM, Preza GP. *Uso De Psicotrópicos Pelo Enfermeiro: Sua Relação Com O Trabalho*. Cinergis. 2016 Set; 17(3): 191-195
14. Bahora M, Sterk CE, Elifson KW. Understanding Recreational Ecstasy Use In The United States: A Qualitative Inquiry. *Int J Drug Policy* 2009 Jan; 20(1): 62-69.
15. Verstraete AG, Pierce A. Workplace Drug Testing In Europe. *Forensic Sci Int* 2001 Set;121(1-2): 2-6.
16. Meririnne E, Mykkänen S, Lillsunde P, Kuoppasalmi K, Lerssi R, Laaksonen I, Lehtomäki K, Henriksson M. Workplace Drug Testing In A Military Organization: Results And Experiences From The Testing Program In The Finnish Defence Forces. *Forensic Sci Int* 2007;170(2-3): 171-174.
17. Cruz MS, *Impacto Do Uso De Drogas Na População Brasileira: Análise De Dados Epidemiológicos De Indicadores – 2001 A 2007*. In: Duarte PCAV, Stempluk VA, Barroso LP, Organizadoras. *Relatório Brasileiro Sobre Drogas; SENAD 2009*: 345-357.
18. Edital Concurso Polícia Militar Goiás 2012 [Internet]. [Cited 2021 Oct 19]. Disponível em: <https://www.Acheconcursos.Com.Br/Edital-concurso/Edital-concurso-policia-militar-goias-2012>
19. Edital Concurso PM-GO 2016 [Internet]. www.Acheconcursos.Com.Br. [Citado 2021 Out 19]. Disponível Em: <https://www.Acheconcursos.Com.Br/Edital-concurso/Edital-concurso-pm-go-2016>
20. Edital Concursos PM-SP 2017 - Soldado [Internet]. [Citado 2021 Out 19]. Disponível Em: <https://www.Acheconcursos.Com.Br/Edital-concurso/Edital-concurso-pm-sp-2017-soldado>
21. Edital Concursos PM-SP 2018 [Internet]. [Citado 2021 Out 19]. Disponível Em: <https://www.Acheconcursos.Com.Br>

- Com.Br/Edital-concurso/Edital-concurso-pm-sp-2018
22. Secretaria Da Segurança Pública Polícia Militar Do Estado De São Paulo. Disponível em: <https://Documento.Vunesp.Com.Br/Documento/Stream/Otcwotgw>
23. Edital Concurso PMSP 2021 - Soldados [Internet]. [Cited 2021 Oct 19]. Available From: <https://www.Acheconcursos.Com.Br/Edital-concurso/Edital-pmsp-2021-soldado>
24. Brasil. Secretaria Nacional De Segurança Pública. (Senasp). Mulheres Nas Instituições De Segurança Pública: Estudo Técnico Nacional. Brasília, 2013. P. 10
25. Araujo JC, Sousa RR (Coord.). Coleção Pesquisa perfil das instituições de segurança pública - Ano-base 2018. Edição digital ministério da justiça e segurança pública/secretaria nacional de segurança pública 2020.
26. Carlini EA. (Super.) II Levantamento Domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: Estudo envolvendo as 108 maiores cidades do País: 2005, São Paulo (sp): Senad; 2007.
27. Orlandi P, Noto AR. Uso indevido de benzodiazepínicos: um estudo com informantes-chave no município de São Paulo. *Revista Latino-Americana de Enfermagem* 2005; 13: 896-902.
28. Costa SHN et al. Survey on the use of psychotropic drugs by twelve military police units in the municipalities of Goiânia and Aparecida de Goiânia, state of Goiás, Brazil. *Brazilian Journal of Psychiatry* 2010; 32 (4): 389-395.
29. Bray RM, Hourani LL. Substance use trends among active duty military personnel: findings from the united states department of defense health related behavior surveys, 1980-2005 2007 Jul; 102 (7): 1092-101.
30. Maia DB et al. Post-traumatic stress symptoms in an elite unit of brazilian police officers: prevalence and impact on psychosocial functioning and on physical and mental health. *J affect disord* 2007; 97: 241-5.
31. Viana N. Inspeção do trabalho E violência nas relações de trabalho. In: José Fernando da Silva; Ricardo Barbosa Lima; Sadi Dal Rosso. (Org.). *Violência e trabalho no brasil*. Cegraf, 2001; 1:133-153.
32. Maia DB et al. Post-traumatic stress symptoms in an elite unit of brazilian police officers: prevalence and impact on psychosocial functioning and on physical and mental health. *J affect disord* 2007; 97: 241-5.
33. Amador FS. Violência Policial: Verso e reverso do sofrimento. Dissertação de mestrado. Instituto de psicologia, pontifícia universidade católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.
34. Gomes R, Minayo MCS, Silva CFR. Riscos da profissão. In: Minayo, M. C. S.; Souza, E. R. (Orgs). *Missão investigar: Entre o ideal e a realidade de ser policial*. Rio de Janeiro: Garamond, 2003.
35. Patrocínio MCC, Souza EMCD. Fatores psicossociais na gênese de atos agressivos de policiais militares, in: Sampaio, J. R. (Org.). *Qualidade de vida no trabalho e psicologia social*. 2.Ed. São Paulo: Casa do psicólogo, 2004.
36. Verstraete AG, Pierce A. Workplace drug testing in europe. *Forensic sci int* 2001; 121(1-2):2-6.
37. Meririnne E, Mykkänen S, Lillsunde P, Kuoppasalmi K, Lerssi R, Laaksonen I, Lehtomäki K, Henriksson M. Workplace drug testing in a military organization: results and experiences from the testing program in the finnish defence forces. *Forensic sci int* 2007; 170(2- 3):171-174.
38. Martello S, Fett CA. Uso de drogas psicotrópicas por Policiais Militares de Cuiabá e Várzea Grande. *Homens Do Mato - Revista Científica de Pesquisa em Segurança Pública*. 2013 Jul/Dez; 11; 1-20.
39. Costa SHN et al. Prevalência do uso de drogas psicotrópicas em unidades da Polícia Militar. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2015, V. 20, N. 6, pp. 1843-1849.
40. Carlini, EA. (Super.) et al. II Levantamento Domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: Estudo envolvendo as 108 maiores cidades do País: 2005, São Paulo (sp): Senad; 2007.
41. Costa SHN et al. Prevalência do uso de drogas psicotrópicas em unidades da Polícia Militar. *Ciência & Saúde Coletiva* 2015; 20 (6): 1843-1849.

Qualidade microbiológica de cosméticos industrializados: estudo experimental com bases faciais líquidas

Microbiological quality of industrialized cosmetics: experimental study with liquid foundation

Lorena Rocha Martins Gomes¹, Nikary Stefany Paula Santos¹,
Alessandra Marques Cardoso^{1,2,3}

¹ Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

² Faculdade da Polícia Militar – FPM

³ Secretaria de Estado da Saúde de Goiás – SES-GO

Resumo

Devido à introdução crescente e diária de cosméticos no mercado, alguns microrganismos inevitavelmente passam despercebidos em baixos níveis de contaminação. Este trabalho objetivou realizar análises microbiológicas de bases faciais cosméticas líquidas e industrializadas. Foram adquiridas 11 amostras de bases faciais líquidas de diferentes indústrias cosméticas, comercializadas em Goiânia-GO. As bases foram analisadas seguindo uma metodologia adaptada da Farmacopeia Brasileira e da RDC/ANVISA N° 481, de 23 de setembro de 1999, conforme dispõe o controle microbiológico de produtos cosméticos. As análises consistiram na pesquisa e contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios totais, coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Todos os testes foram realizados em duplicata, por meio do método de semeadura em superfície. Sobre a pesquisa de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e coliformes, observou-se resultados negativos nas 11 (100,0%) amostras analisadas. Contudo, em duas (18,2%) amostras foi observada contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios acima do limite permitido pela legislação brasileira, que é de 5×10^2 UFC/g. As análises micológicas revelaram crescimento fúngico em 10 (90,9%) amostras, embora estivessem com a contagem de colônias abaixo do limite máximo considerado aceitável pela ANVISA. Este estudo evidenciou a necessidade de garantir a qualidade e a higiene das bases cosméticas faciais líquidas industrializadas. Em sua maioria, as amostras apresentaram adequado controle da qualidade microbiológico, contudo, vale ressaltar a importância da adoção de melhorias por parte das indústrias quanto ao cumprimento das boas práticas de fabricação.

Palavras-chave: Microbiologia; Contaminação Biológica; Controle de Qualidade.

Abstract

Due to the daily increasing introduction of cosmetics on the market, some microorganisms inevitably go unnoticed at low levels of contamination. This work aims to carry out microbiological analyzes of liquid and industrialized cosmetic facial bases. Eleven samples of liquid facial foundations from different cosmetic industries, commercialized in Goiânia-GO, were acquired. The liquid facial was analyzed following a methodology adapted from the Brazilian Pharmacopoeia and RDC of ANVISA number 481, of September 23, 1999, as provided for the microbiological control of cosmetic products. The analysis consisted of research and the total count of the mesophilic total aerobic microorganisms, total coliforms, thermotolerant, molds and yeast, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. All tests were performed in duplicate, using the superficial sowing method. Regarding the investigation of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* and coliforms, negative results were observed in the 11 (100.0%) samples analyzed. However, in two (18,2%) samples a total count of aerobic mesophilic microorganisms was observed above the limit allowed by Brazilian legislation, which is from 5×10^2 UFC/g.

Contato para correspondência:

Alessandra Marques Cardoso

E-mail:

alemarquespuc@gmail.com

Conflito de interesse:

Não

Financiamento:

Recursos próprios

Recebido:

23/11/2021

Aprovado:

10/12/2021



Mycological analyzes revealed fungal growth in 10 (90.9%) of the samples, although they were with the count below the limit minimum considered acceptable by ANVISA. The present study highlighted the need to guarantee the quality and hygiene of industrialized liquid facial cosmetic foundations. Most of the samples showed adequate microbiological quality control, however, it is worth emphasizing the importance of the adoption of improvements by the industries regarding compliance with good manufacturing practices.

Keywords: Microbiology; Biological Contamination; Quality control.

Introdução

Há aproximadamente 30.000 anos os produtos cosméticos surgiram na Ásia, entretanto a sua primeira utilização ocorreu no antigo Egito, onde as pessoas pintavam os olhos para evitar a contemplação direta do Deus Sol. O conceito de cosméticos vem do grego *kosmostikos*, e significa poder e habilidade de decorar, retratando a finalidade da sua utilização no passado, que era basicamente ornamentação, cultos aos deuses e camuflagem como proteção em guerras¹⁻³.

A indústria de cosméticos tem sido de grande importância na economia de grande parte dos países desenvolvidos, incluindo o Brasil que atingiu a marca de 29,62 bilhões de dólares em 2019, se tornando então o quarto maior mercado mundial, seguindo atrás somente dos Estados Unidos, China e Japão. O país representa metade desse setor na América Latina e mesmo com a crise causada pelo coronavírus em 2020, se manteve em alta. Os cosméticos são exportados a 174 países, sendo a Argentina responsável por quase um quarto (24,8%) do valor exportado em 2020⁴.

A produção e a comercialização destes produtos têm oferecido resultados promissores aos profissionais desse setor. Consequentemente, com o crescimento deste mercado, as indústrias passaram a diversificar seus produtos, reformulando a composição, a rotulagem, e passando a ter maior preocupação com os consumidores^{4,5}.

Os cosméticos industrializados podem apresentar caráter químico ou natural, e são destinados à proteção ou embelezamento de diferentes regiões do corpo. Podem ser classificados como cosméticos de superfície, cosméticos de profundidade, cosméticos de decoração e adorno, cosméticos de limpeza e de tratamento⁶. Embora a sua classificação seja estabelecida no quadro de "produtos de saúde", a maioria desses produtos estão classificados como produtos farmacêuticos não estéreis, podendo então sofrer contaminação por microrganismos⁷.

A qualidade e a segurança devem ser garantidas através das exigências estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), cuja responsabilidade compreende a implementação de normas de Boas Práticas de Fabricação e Controle de Qualidade, regidas pela RDC nº. 48/2013, ga-

rantindo qualidade e segurança na utilização dos produtos cosméticos^{8,9}.

O controle microbiológico dos produtos cosméticos é de suma importância, uma vez que envolve qualidade e segurança para os usuários¹⁰. Para proteger e prevenir a qualidade dos produtos, substâncias conservantes são empregadas, mantendo assim, a carga microbiana dentro do padrão estabelecido, protegendo-os contra a contaminação bacteriana e fúngica, correspondendo aos microrganismos mais comuns presentes³.

Porém, apesar dos cuidados para a fabricação segura, os conservantes não apresentam uma segurança conclusiva, podendo surgir microrganismos na manipulação e até mesmo durante o uso pelo consumidor. Cabe também atenção quanto às embalagens, sendo que estas podem promover proteção ou desproteção do produto^{11,12}.

O surgimento de microrganismos ocorre devido aos produtos serem substratos e apresentarem nutrientes, como água, vitaminas, lipídios, dentre outros, proporcionando assim, um ambiente ideal para o seu crescimento e proliferação. Os principais microrganismos que podem ser patogênicos e apresentarem riscos à saúde humana são *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*^{13,14}.

Em virtude da introdução crescente e diária de cosméticos no mercado, alguns microrganismos inevitavelmente passam despercebidos em baixos níveis de contaminação³. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi realizar análises microbiológicas de bases faciais cosméticas líquidas e industrializadas, de acordo com a RDC da ANVISA Nº 481, de 23 de setembro de 1999¹⁵.

Métodos

Foram adquiridas 11 amostras de bases cosméticas faciais líquidas de diferentes indústrias cosméticas, comercializadas em Goiânia-GO. Dentre as bases utilizadas, foram adquiridas marcas bastante consumidas pela população, bem como outras pouco difundidas no mercado. As bases foram enumeradas de 01 a 11, e analisadas seguindo uma metodologia adaptada da Farmacopeia Brasileira, 6ª edição, de 12 de agosto

de 2019¹⁶ e da RDC da ANVISA N° 481, de 23 de setembro de 1999¹⁵, conforme dispõe o controle microbiológico de produtos cosméticos.

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (LAC/PUC Goiás), seguindo todas as normas de biossegurança. Com relação aos critérios éticos e legais, não houve necessidade de submeter o projeto a um comitê de ética e pesquisa, uma vez que não foram utilizadas amostras humanas e/ou animais. Contudo, foram preservadas as identidades das indústrias de cosméticos cujas bases faciais líquidas foram testadas.

Todos os materiais utilizados nos experimentos foram submetidos previamente ao processo de esterilização, empregando o uso de autoclave, por meio de calor úmido sob pressão, à temperatura de 121°C, durante 15 minutos. O manuseio de todas as amostras e materiais utilizados durante os procedimentos microbiológicos foram realizados em uma cabine de segurança biológica classe II. As bases foram adquiridas com embalagens plásticas lacradas e com tampas de rosca, sendo desinfetadas de acordo com os procedimentos operacionais padrões (POP) descritos na Farmacopeia Brasileira, 6ª edição, de 12 de agosto de 2019¹⁶, utilizando o etanol a 70%^{15,17}.

Para o preparo das amostras foram diluídos 1g de base facial cosmética em 8,8 mL de NaCl a 0,85% estéril. A diluição teve como objetivo a neutralização dos conservantes inibidores do crescimento microbiano presentes nas amostras que pudessem interferir nas análises. Logo, por se tratar de amostras que possuem em sua composição produtos de natureza lipídica, foram acrescentados 0,2 mL de Polissorbato 20 estéril, um agente tensoativo não aniônico, adotando-se uma diluição de 1:10. Posteriormente, as amostras foram submetidas à temperatura de 45°C por 30 minutos até a formação de uma emulsão, o que auxiliou na clivagem das substâncias gordurosas que porventura estivessem presentes (Figura 1)^{15,18,19}.

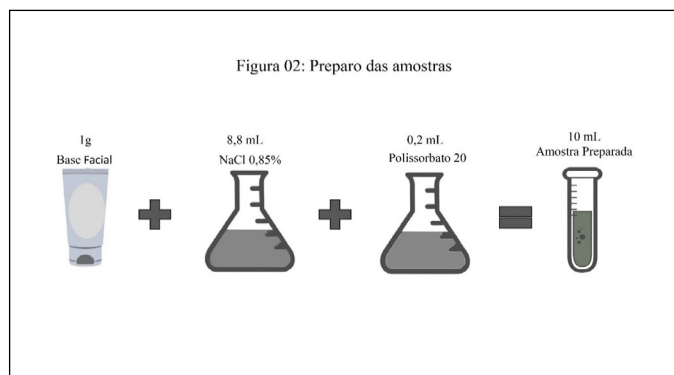


Figura 1. Processo de diluição e neutralização dos conservantes das bases faciais líquidas.

As análises consistiram na pesquisa e contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios totais, coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Todos os testes foram realizados em duplicata, por meio do método de semeadura em superfície dos meios de cultura^{15,17}.

Para a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios totais, foram semeados 0,1 mL das amostras preparadas no *Ágar Plate Count Agar* (PCA) e incubadas à temperatura de 35°C, sendo as leituras das placas realizadas no terceiro, quarto e quinto dia de incubação.

Para a contagem de bolores e leveduras, foram semeados na superfície das placas de ágar Sabouraud Dextrose, 0,1 mL da amostra preparada. As placas foram incubadas à temperatura ambiente, sendo as leituras realizadas no quinto, sexto e sétimo dia de incubação. As colônias fúngicas isoladas foram identificadas por meio do estudo das suas características macromorfológicas e micromorfológicas, pela técnica do esgarçamento de alça com lactofenol azul de algodão.

Para a pesquisa e contagem de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, coliformes totais e termotolerantes, um volume de 0,5 mL das amostras preparadas foram previamente incubadas em 4,5 mL de caldo de enriquecimento *Brain Heart Infusion Broth* (caldo BHI), tendo como volume final 5mL (diluição equivalente a 1:20) em estufa microbiológica, sob temperatura de 35°C, por um período de 24 horas²⁰.

Após esse período, realizou-se a semeadura de 0,1mL do caldo BHI na superfície de cada um dos ágar: Manitol-sal (para pesquisa de *S. aureus*), MacConkey (para pesquisa de *P. aeruginosa*, *E. coli*, coliformes totais e termotolerantes) e *Eosin Methylene Blue* – EMB (para pesquisa de *E. coli*, coliformes totais e termotolerantes). Após semeadura, as placas de Manitol-sal, MacConkey e EMB foram incubadas à temperatura de 35°C, sendo as leituras realizadas com 24 horas, 48 horas e 72 horas. A Figura 2 apresenta um resumo esquemático do protocolo adotado para a semeadura das amostras nos meios de cultura.

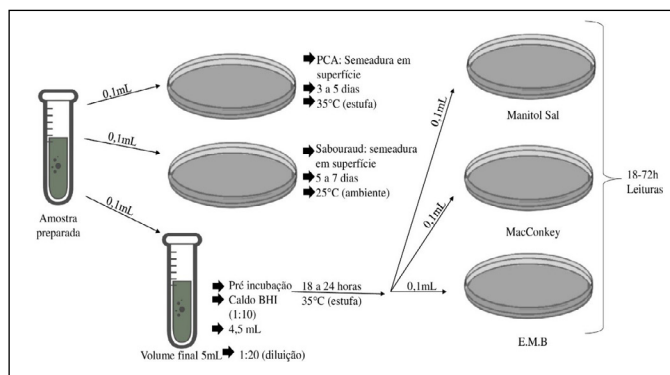


Figura 2. Preparo das culturas para contagem total dos microrganismos em seus respectivos ágar pelo método de semeadura em superfície.

Resultados

Em relação à pesquisa de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e coliformes, observou-se resultados negativos nas 11 (100,0%) amostras analisadas. Contudo, em duas (18,2%) amostras foi observada contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios acima do limite permitido pela legislação brasileira, que é de 5x10² UFC/g. Os resultados das análises bacteriológicas encontram-se apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises bacteriológicas de bases faciais cosméticas líquidas e industrializadas, comercializadas em Goiânia, GO.

Bases Faciais	Atendimento a Legislação Brasileira	Contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios (UFC/g)	Pesquisa de bolores e leveduras (UFC/g)	Pesquisa de coliformes (UFC/g)	Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> (UFC/g)	Pesquisa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/g)	Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> (UFC/g)
1	Sim	25	10	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	Sim	30	20	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
3	Sim	10	60	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
4	Sim	15	40	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
5	Sim	20	20	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
6	Sim	315	0	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	Sim	30	10	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
8	Sim	50	05	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
9	Não	3140	20	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
10	Não	1020	60	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
11	Sim	90	35	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

Legenda: UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama de produto.

As análises micológicas revelaram crescimento fúngico em 10 (90,9%) amostras, sendo identificados: *Rhodotorula* spp., *Exophiala jeanselmei*, *Drechslera* spp., *Fonsecaea* spp., *Curvularia* spp. e *Mycelia sterilia*. A Tabela 2 apresenta as espécies fúngicas isoladas em cada uma das amostras analisadas.

Tabela 2. Espécies fúngicas isoladas nas bases faciais cosméticas líquidas e industrializadas, comercializadas em Goiânia, GO.

Base Facial	Espécie Fúngica
01	<i>Mycelia sterilia</i>
02	<i>Mycelia sterilia</i>
03	<i>Exophiala jeanselmei</i> e <i>Drechslera</i> spp.
04	<i>Mycelia sterilia</i>
05	<i>Mycelia sterilia</i>
06	Negativa
07	<i>Mycelia sterilia</i>
08	<i>Fonsecaea</i> spp.
09	<i>Mycelia sterilia</i>
10	<i>Rhodotorula</i> spp.
11	<i>Drechslera</i> spp e <i>Curvularia</i> spp.

Discussão

A ANVISA estabelece que as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios totais, bolores e leveduras não podem ultrapassar 102 UFC/g ou mL do produto, sendo o limite máximo aceitável de 5x10² UFC/g ou mL, e que necessitam indicar ausência para a pesquisa de coliformes, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*^{9,16}. A detecção de microrganismos nos produtos cosméticos indicam falhas no processamento, que podem ocorrer desde a aquisição da matéria prima até a apresentação do produto no comércio²¹.

No presente estudo, 18,2% das bases faciais cosméticas líquidas analisadas apresentaram contagem de colônias de microrganismos mesófilos aeróbios acima do limite máximo permitido pela ANVISA (5x10² UFC/g ou mL) e 90,9% das amostras apresentaram contaminação por fungos anemófilos, embora nesse caso específico da pesquisa de bolores e leveduras, as culturas revelaram contagem de colônias abaixo do limite máximo considerado aceitável pela ANVISA (5x10² UFC/g ou mL). Esses achados evidenciam a necessidade da garantia da qualidade microbiológica das embalagens e nas fases do processamento do produto por parte da indústria, bem como atenção do consumidor no momento da aquisição, em relação ao aspecto visual e ao prazo de validade estabelecido pelo fabricante. No geral, as amostras apresentaram resultados satisfatórios quanto aos critérios microbiológicos, mas vale ressaltar que melhorias no cumprimento das boas práticas de fabricação por parte das indústrias é importante no sentido de proporcionar maior segurança aos consumidores.

Mageste et al.²² realizaram um estudo em ambiente de produção de uma empresa farmacêutica de Juiz de Fora, MG, obtendo resultados entre 26 e 53 UFC/hora, com o limite máximo estabelecido de 50 UFC/hora para contaminantes do ar. Dentre suas comparações, os autores verificaram que o baixo índice de contaminantes encontrados se deu pelo uso de vestimentas específicas, equipamentos de proteção individual (EPI), treinamentos de funcionários, monitoramento, e higienização adequada dos ambientes.

No trabalho de Cucé et al.²³, *Mycelia sterilia*, *Cladosporium* spp. e *Penicillium* spp. foram os gêneros fúngicos mais isolados em instalações hospitalares. O surgimento e o crescimento destes fungos anemófilos foram influenciados pelas condições ambientais, tais como umidade e temperatura, bem como pelos métodos de limpeza empregados nos ambientes e fluxo de pessoas nos locais estudados. Sendo a higiene e a sanitização, tanto do ar ambiente quanto dos trabalhadores, máquinas e utensílios, o que mantém e garante a qualidade do produto^{10,24}.

Produtos com maior teor de água em sua composição são mais vulneráveis à contaminação microbiana. Se ocorrer

alguma contaminação ambiental, produtos com essa característica podem se tornar meios de cultura para diversos microrganismos²¹. E mesmo a pele sendo uma barreira natural devido ao seu pH e seus componentes lipídicos, os quais promovem a inibição de diferentes microrganismos de sua microbiota autóctone, fungos e bactérias mesófilas aeróbias podem penetrar através de lesões na pele²⁵.

Embora considerados contaminantes ambientais, alguns dos fungos que foram observados nessa pesquisa podem trazer prejuízos à saúde humana, principalmente em se tratando de indivíduos imunossuprimidos. O fungo *Exophiala jeanselmei* é um exemplo de espécie ambiental comum, tendo como algumas manifestações clínicas micetomas, infecções cutâneas e cistos subcutâneos que podem penetrar na pele²⁶. Já *Curvularia* spp. é uma espécie de afecção cutânea, fungo não-dermatófito, que raramente implica em patologia humana, estando descritos raros casos de inoculação traumática ou fenômenos alérgicos²⁷.

Já a *Rhodotorula* spp. é uma levedura emergente, que apesar de fazer parte da microbiota normal transitória, pode ocasionar infecção em humanos²⁸. Quanto à *Fonsecaea* spp., é considerada um importante agente etiológico da cromoblatomicose, uma micose subcutânea que pode assumir um caráter oportunista, assim como a *Drechslera* spp., que pode acometer indivíduos imunossuprimidos²⁹.

É esperado que os cosméticos atendam aos padrões microbiológicos determinados pela legislação brasileira e cumpram a aplicação das boas práticas de fabricação, pois os fungos e as bactérias, quando presentes em grande quantidade nas formulações, podem desenvolver danos quando os produtos são aplicados em regiões da pele, sobretudo quando lesões estão presentes, e perder a estabilidade da formulação do produto^{10,24}.

Conclusão

Em conclusão, o presente estudo evidenciou a necessidade de garantir a qualidade e a higiene das bases cosméticas faciais líquidas industrializadas, comercializadas em Goiânia, GO. Em sua maioria, as amostras atenderam à legislação brasileira em relação ao controle de qualidade microbiológico, embora duas (18,2%) amostras analisadas tenham apresentado contagem de colônias de microrganismos mesófilos aeróbios acima do limite máximo permitido pela ANVISA e o percentual de amostras contaminadas com fungos foi considerado elevado em 10 amostras (90,9%), mesmo com a contagem de colônias de bolores e leveduras encontrando-se abaixo do limite máximo considerado aceitável pela ANVISA. Contudo, vale ressaltar a importância da adoção de melhorias por parte das indústrias quanto ao cumprimento das boas práticas de

fabricação, no intuito de assegurar a segurança microbiológica destes cosméticos aos seus consumidores.

Referências

1. Lyrio ES, Ferreira GG, Zuqui SN, Silva AG. Recursos vegetais em biocosméticos: conceito inovador de beleza, saúde e sustentabilidade. [Trabalho de Conclusão de Curso]. Vila Velha: Centro Universitário Vila Velha, Curso de Graduação Tecnologia em Estética, 2011.
2. Santana A, Okamoto PT, Barboza LC, et al. Cosméticos à base de produtos naturais. 1ª Edição. ESPM; 2008.
3. Barbosa ALF. Avaliação da eficácia antimicrobiana do monoéster de C-8 xilitol como alternativa conservante para produtos cosméticos [Dissertação de mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas. 2010.
4. O surpreendente mercado de beleza no Brasil [Internet]. NegociosSC. 2021 [cited 2021 Dec 10]. Available from: <https://negociossc.com.br/blog/o-surpreendente-mercado-de-beleza-no-brasil-e-seu-publico>.
5. Fritz M, Souza, CG. Inovação na indústria de cosméticos - Casos de empresas do setor. Anais do XXXIV COBENGE; 2006;1-16.
6. Benvenutti AS, Veiga A, Rossa LS, Murakami F. Avaliação da qualidade microbiológica de maquiagens de uso coletivo. 2016;(20):159-163.
7. Noor R, Zerin N, Das KK, Nittu, LN. Safe usage of cosmetics in Bangladesh: a quality perspective based on microbiological attributes. Journal of Biological Research-Thessaloniki. Post. 09 September 2015.
8. Iensen T, Vogler J. Controle de qualidade microbiológico de produtos cosméticos brasileiros: Elaboração de um protocolo. Anais do EVINCIR; 11-06-2021.
9. Brasil, Ministério da Saúde 2013. Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Aprova o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, e dá outras providências. Estado De Goiás, Assembleia Legislativa Do Estado De Goiás 1999. Lei nº 9.782.
10. Mota VAM, Junior JAO, Chiari-Andréo BG. O controle da contaminação microbiológica de produtos magistrais. Revista Brasileira Multidisciplinar. 2017.
11. Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2003;(41):2-1.
12. Jorge AIS, Oliveira AP, Oliveira RP. Avaliação da eficácia de conservantes em preparações comerciais para higiene íntima - Experiência Profissionalizante na vertente de Investigação e Farmácia Comunitária. [Dissertação de mestrado]. Covilhã: Universidade da Beira Interior, Ciências da Saúde.
13. Neza E, Centini M. Microbiologically Contaminated and Over Preserved Cosmetic Products According Rapex. Department Biotechnologies, Chemistry and Pharmacy, University of Siena, Via Aldo Moro 2, Siena.
14. Shaqra A, Al-Groom RM. Microbiological quality of hair and skin care cosmetics manufactured in Jordan. Elsevier; 2012.
15. Brasil, Ministério da Saúde 1999. Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Considerando a necessidade de estabelecer parâmetros para controle microbiológico de produtos cosméticos. Estado de Goiás, Assembleia Legislativa do Estado de Goiás. 1999. Lei nº 481.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia brasileira. 6.ed., v.1. Brasília: ANVISA, 2019.
17. Amaral R, et.al. 1ª edição. Guia de microbiologia. [S.l.]. 2015.
18. Bou-Chacra NA, Ohara MT. Validação de método para avaliação de qualidade sanitária de preparação cosmética de base lipofílica. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências farmacêuticas; 2003.
19. Vasconcelos TYL, Medeiros DPF, Nascimento AA. A inibição do sistema conservante de duas emulsões o/a por Polissorbato 80. Infarma. 2015;(27): 221-225
20. Brandão R, Gomes A, Batista F, Borba T, Fernandes C, Júnior A, Souza S, Pinto M. Análise microbiológica de bases cosméticas faciais. [Trabalho de conclusão de curso] Montes Belos: Faculdade Montes Belos, Curso de farmácia. 2014.
21. Kasvi. Qualidade microbiológica em Produtos Cosméticos. [Internet]. São José do Pinhais – PR. [atualizado em 2016 Mar.24; citado em 2021 Set 22]. Disponível em: <https://kasvi.com.br/qualidade-microbiologica-cosmeticos/>.
22. Mageste JO, Pereira TCD, Silva GA, Barros RAM. Estudo da microbiota fúngica anemófila de uma indústria farmacêutica de Juiz De Fora – MG. 2012; (1) 1-17.
23. Cucé LC, Andrade FA, Salebiam A, Vaccari EMH. Flora anemófila em ambiente hospitalar. Anais Brasileiros de Dermatologia, 1993; (68) 201-204.
24. Weber LZ, Frasson APZ. Controle microbiológico do ambiente interno de farmácias de manipulação. Revista Contexto & Saúde. 2013;(9)39-44.
25. Salgado YCS. Patologia das doenças. Ponta Grossa. 2018.

26. Pereira ACSF, Júnior PPS, Milian EP. [Internet]. Natal-RN. Eumicetoma e actinomicetoma: uma breve revisão da literatura. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN. [Recebido em 2017 Out; Aprovado em 2018 nov.]. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/eumicetoma-e-actinomicetoma-uma-breve-revisao-da-literatura/>
27. Antoniassi NAB, Corrêa AMR, Becker C, Sanchês EMC, Ferreira L, Driemeier D. 2010. Feohifomicose cutânea causada por *Curvularia* sp. em um equino. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2010; (1): 73-76.
28. Alves KP. 2019. Realidade e desafios de infecções emergentes por *Rhodotorula* spp. em pacientes hospitalizados. [Trabalho de Conclusão de Curso]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de Farmácia; 2019.
29. Bravim MS. 2009. Fungos associados às onicomicoses: prevalência e suscetibilidade a drogas antifúngicas. [Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia das doenças infecciosas]. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo; 2009.

Predição biológica *in silico* de marcadores químicos encontrados em *Arachis hypogaea*

In silico biological prediction of Chemical markers found in *Arachis hypogaea*

Kállita Poliana da Silva¹, Ana Beatriz Ferro de Melo¹, Eduardo Chaves Ferreira Coelho¹, Leonardo Luiz Borges^{1,2}

¹ Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

² Universidade Estadual de Goiás – UEG

Resumo

A *Arachis hypogaea* cultivada é a segunda leguminosa de maior importância e uma das oleaginosas mais cultivadas no mundo. Dentre os compostos mais relevantes encontrados na planta estão principalmente estilbenos e flavonoides. Esses compostos estão envolvidos em um mecanismo da planta para a defesa contra lesões físicas e contaminação por micro-organismos. Nesse sentido, o objetivo da presente pesquisa consiste em identificar moléculas químicas da espécie *Arachis hypogaea* propensas a inibir alvos biológicos. Dessa forma, será realizado um levantamento bibliográfico dos marcadores químicos já identificados nesta espécie; construir as estruturas 2D e 3D desses compostos, realizar a predição biológica dessas substâncias e promover a interação molecular por meio de dosagem molecular com os alvos encontrados nas análises prévias. A busca por marcadores químicos da espécie *Arachis hypogaea* foi realizada por meio de revisão bibliográfica baseada em artigos publicados na base de dados do PubMed, utilizando os termos booleanos AND, OR, NOT e filtração de resultados; ScienceDirect e SciELO. Por meio do levantamento bibliográfico, foram identificadas 7 moléculas químicas presentes na espécie *Arachis hypogaea*. Dentre as moléculas encontradas, está a araquidina-1 que apontou ainda como probabilidade mais relevante a atuação da molécula na subunidade alfa da proteína quinase P13 relacionado ao câncer de colo retal. Por fim, conclui-se que o composto natural Araquidina-1, extraído da espécie *Arachis hypogaea*, com seu amplo espectro de bioatividade apresentou resultados promissores para o tratamento do câncer de colorretal.

Palavras-Chave: *Arachis hypogaea*; Docking; Câncer colorretal; Mutação; Amendoim.

Abstract

Cultivated *Arachis hypogaea* is the second most important legume and one of the most cultivated oilseeds in the world. Among the most relevant compounds found in the plant are mainly stilbenes and flavonoids. These compounds are represented in a plant mechanism for defense against forms and contamination by microorganisms. In this sense, the objective of this research is to identify molecules of the *Arachis hypogaea* species that are prone to inhibit biological targets. Thus, a bibliographic survey of chemical markers already identified in this species will be carried out; build the composite 2D and 3D structures, carry out the biological prediction of these substances and promote a molecular interaction through molecular dosage with those found in previous analyses. The search for chemical markers of the *Arachis hypogaea* species was performed through a literature review based on articles published in the PubMed database, using the Boolean terms AND, OR, NOT and filtering of results; ScienceDirect and SciELO. Through a bibliographic survey, 7 molecules present in the species *Arachis hypogaea* were identified. Among the molecules found, there is arachidine-1, which also pointed out as the most relevant probability the action of the molecule in the alpha subunit of the protein kinase P13 related to colorectal cancer. Finally, it is concluded that the natural compound Araquidina-1, extracted from the species *Arachis hypogaea*, with its broad spectrum of bioactivity presents promising results for the treatment of colorectal cancer.

Keywords: *Arachis hypogaea*; Docking; Colorectal cancer; Mutation; Peanut.

Contato para correspondência:

Leonardo Luiz Borges

E-mail:

leonardo.cbb@pucgoias.edu.br

Conflito de interesse:

Não

Financiamento:

Recursos próprios

Recebido:

23/11/2021

Aprovado:

09/12/2021



Introdução

As plantas medicinais consistem nas mais antigas “armas” utilizadas pelo ser humano para fins terapêuticos das mais diversas patologias. Trata-se de um hábito que acompanhou a história da humanidade. O conhecimento relacionado a flora perpassou pela evolução do homem através dos tempos. As civilizações primitivas por meio da observação notaram a diferença entre plantas comestíveis com relação às outras dotadas de algum potencial terapêutico. Esse conhecimento foi sendo repassado oralmente através das gerações até o surgimento da escrita, que logo passaram a serem registradas manualmente^{1,2}.

Dentre os primeiros registros relacionados, há a utilização das plantas datado de 500 a. C., no texto Chinês que descreve minuciosamente não somente os nomes, mas também as doses e indicações de uso de plantas para tratamento de enfermidades. Outros registros de plantas medicinais foram encontrados no manuscrito Egípcio “Ebers Papyrus”, de 1.500 a. C.¹.

A partir do final do século XIX, por meio do isolamento dos constituintes dotados de alguma ação farmacológica, a utilização de compostos advindos das plantas entra numa nova fase. Nesse contexto, destaca-se os trabalhos do pesquisador Claude Bernard (1813-1878), que verificaram as atividades de vários extratos vegetais como forma de identificar melhor seus componentes biológicos².

Nas últimas décadas, houve um aumento considerável quanto ao interesse em substâncias advindas das espécies vegetais, evidenciado pelo crescimento nas publicações relacionadas à farmacologia. Alguns fatores têm contribuído para este aumento de interesse, entre eles está a grande eficácia de algumas substâncias antitumorais obtidas de plantas, como os alcaloides e taxoides. O interesse no estudo de espécies vegetais para fins medicamentosos ocorreu devido à presença de princípios ativos, que são moléculas denominadas fitofármacos, sintetizados pelo metabolismo secundário das plantas como forma de combater predadores³.

Dentre as plantas com potencial terapêutico, está a *Arachis hypogaea* L. que é conhecida popularmente como amendoim. É uma planta pertencente ao gênero *Arachis* L. (Leguminosae), o qual é dividido em nove seções. A *Arachis hypogaea* L. pertence a subfamília Papilionoideae, gênero *Arachis* juntamente com mais 80 espécies silvestres, tanto anuais quanto perenes. A planta é nativa da América do Sul, na região que compreende entre as latitudes 10° e 30° sul, com provável centro de origem do noroeste da Argentina ao sul da Bolívia. Trata-se de uma planta alotetraploide, que se reproduz quase exclusivamente por autogamia. É herbácea, ereta ou prostrada, anual, com ciclo entre 90 e 160 dias, podendo atingir a altura da haste principal entre 50 e 60 cm^{4,5}.

A *Arachis hypogaea* é a segunda leguminosa de maior importância e uma das oleaginosas mais cultivadas no mundo. Suas sementes, as quais são provenientes dos óvulos, se constituem na parte de maior interesse econômico, por se tratar de um alimento nutritivo e com alto teor de óleo comestível. Seu número pode variar entre 1 e 6 e sua proporção varia de acordo com a cultura e as condições do plantio que, de maneira geral, situa-se entre 65 e 80%. No Brasil, ocorre o maior número de espécies, sendo que 46 são exclusivamente brasileiras^{4,5}.

A classe de compostos mais encontrados no gênero *Arachis* é derivada fenilpropanoides, principalmente estilbenos e flavonoides, aos quais estão envolvidos na defesa contra lesões físicas e contaminação microbiana⁶.

Atualmente, a geração de novos conhecimentos científicos e tecnológicos tem sido difundida e divulgada rapidamente nos setores de pesquisa. Dentre tais conhecimentos está a descoberta de novos candidatos a fármacos, afinal, muitas classes de compostos orgânicos têm demonstrado efeitos biológicos promissores e a literatura científica relata um crescente aumento na descrição de novas moléculas com potencial farmacêutico⁷.

As técnicas computacionais (*in silico*) para o desenvolvimento de novos fármacos tornou-se nos últimos tempos uma tendência para as indústrias farmacêuticas, pois permite a identificação de moléculas bioativas que, uma vez armazenadas em bancos de dados, poderão ser testados e servir como candidatos a novos fármacos. Partindo dessa vertente, o estudo *in silico* da *Arachis hypogaea* pode ser uma contribuição significativa para a identificação dessas substâncias bioativas, visto que vários compostos desta espécie já foram isolados e apresentaram propriedades terapêuticas⁷.

Nessa perspectiva de análise, o objetivo da presente pesquisa consiste em identificar moléculas químicas da espécie *Arachis hypogaea* propensas a inibir alvos biológicos. Dessa forma, será realizado um levantamento bibliográfico dos marcadores químicos já identificados nesta espécie; construir as estruturas 2D e 3D desses compostos, realizar a predição biológica dessas substâncias e promover a interação molecular por meio de dosagem molecular com os alvos encontrados nas análises prévias. As atividades biológicas que obtiveram uma maior pontuação para cada programa foram selecionadas para investigações mais aprofundadas em etapas posteriores.

Métodos

A busca por marcadores químicos da espécie *Arachis hypogaea* foi realizada por meio de um artigo de revisão publicado por Lopes, R.M. et al. (2011), que fez um compilado dos compostos conhecidos nesta espécie⁶.

As moléculas foram analisadas através dos métodos *in silico*, os quais oferecem informações sobre a atividade biológica e as propriedades físico-químicas dos compostos de interesse. Tornando possível a seleção e triagem de novos fármacos a partir dessas moléculas.

A triagem farmacocinética para os marcadores químicos foi realizada com os programas Molinspiration⁸, SwissADME⁹ e ProtoxPrediction¹⁰. Na etapa de triagem bioativa foi utilizada como ferramenta o PassPrediction¹¹ do qual foi possível obter uma lista com possíveis atividades biológicas para cada uma das substâncias, segundo a filosofia metodológica do programa.

Com base nestas ferramentas foi selecionado uma substância para estudos posteriores, a araquidina-1. Essa seleção ocorreu pela substância apresentar, segundo os servidores Molinspiration e SwissADME⁹, classificação druglikeness, baixa toxicidade e potencial antineoplásico e antimutagênico, conforme apontado pelos servidores ProtoxPredicion¹⁰ e PassPrediction¹¹ respectivamente. Dado este que corrobora com os estudos de Huang e colaboradores¹² no qual afirma que a Araquidina-1 demonstrou eficácia como anticancerígeno.

Partindo desses resultados, a molécula araquidina -1 foi submetida para avaliação no servidor SwissTargetPredicion¹³, o qual apontou como probabilidade mais relevante a atuação na subunidade alfa da proteína quinase P13 relacionado ao câncer de colo retal.

Os métodos de triagem propostos são complementares, explorando estratégias que avaliam a complementaridade das substâncias avaliadas em relação a alvos biológicos de interesse, como implementado no programa SwissTargetPredicion¹³, ou até comparações de propriedades químicas com moléculas bioativas já conhecidas, como observado nos métodos dos programas PASS¹¹, Molinspiration⁸ e ProtoxPrediction¹⁰.

Resultados e Discussão

Identificaram-se, por meio do levantamento bibliográfico, 7 (sete) moléculas químicas presentes na espécie *Arachis hipoganea*. Para a coleta de informações biológicas dessas substâncias, foi realizada uma predição molecular por meio dos bancos de dados Molinspiration⁸, SwissADME⁹ e Protox Prediction¹⁰, os quais avaliam as propriedades farmacocinéticas dos compostos: propriedades físico-químicas, potencial de absorção gastrointestinal e a toxicidade deles. Estas propriedades influenciam na atividade farmacológica dos compostos e, assim, permitem avaliar o potencial de cada biomolécula.

Os resultados encontrados pelos servidores Molinspiration e SwissADME mostram, conforme Tabela 1 e Tabela 2, que as moléculas selecionadas apresentaram potencial *Druglikeness*.

Tabela 1. Propriedade dos compostos encontrados na espécie *Arachis hipogaea*, segundo o servidor Molinspiration.

Compostos	miLogP	MM	nON	nOHNH
Araquidina-1	5,03	312.37	4	4
Araquidina-2	5.70	296.37	3	3
Araquidina-3	5.52	296.37	3	3
arahypin-1	6	280.37	2	2
arahypin-2	3.09	330.38	5	5
arahypin-3	3.56	330.38	5	5
arahypin-4	4.04	314.38	4	4

Legenda: miLogP: de partição octanol / água calculado; MM: massa molar; nON: aceptores de ligação de hidrogênio; e nOHNH: doador de ligação de hidrogênio.

Tabela 2. Propriedade dos compostos encontrados na espécie *Arachis hipogaea*, segundo o servidor SwissADME.

Compostos	Druglikeness	Absorção GI	Permeabilidade a BHE
Araquidina -1	Sim	Alto	Não
Araquidina -2	Sim	Alto	Sim
Araquidina -3	Sim	Alto	Sim
arahypin-1	Sim	Alto	Sim
arahypin-2	Sim	Alto	Não
arahypin-3	Sim	Alto	Não
arahypin-4	Sim	Alto	Não

Legenda: GI: gastrointestinal; BHE: barreira hematoencefálica.

Conforme verificado, todos os compostos selecionados da espécie *Arachis hipogaea* apresentaram potencial *Drug-likeness*, de acordo com os parâmetros de Lipinski¹⁴. A regra de Lipinski, também denominada de regra dos 5, é amplamente utilizada para determinar as propriedades farmacocinéticas dos compostos e tem como objetivo avaliar a permeabilidade e solubilidade dos fármacos administrados por via oral.

De acordo com Lipinski¹⁴, é mais provável que uma molécula candidata seja ativa por via oral se o peso molecular (MM) for inferior a 500; coeficiente de partição octanol/água calculado (log P) for inferior a 5; não mais do que 5 doadores de ligações de hidrogênio (grupos OH e

NH); e não mais de 10 aceptores de ligações de hidrogênio (notavelmente N e O).

Outro parâmetro avaliado nas moléculas candidatas a fármacos da espécie *Arachis hipogaea* foi o perfil toxicológico, por meio do servidor ProToxPrediction¹⁰. A plataforma ProTox-II¹⁰ é dividida em cinco etapas de classificação, sendo elas a toxicidade aguda (toxicidade oral com seis classes de toxicidade), a toxicidade de órgãos, os parâmetros toxicológicos, as vias toxicológicas e as metas de toxicidade¹⁰. A classificação utilizada para este estudo foi a toxicidade aguda e os resultados encontrados por este servidor estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados encontrados para a toxicidade oral nos compostos selecionados da espécie *Arachis hipogaea*, segundo o servidor ProToxPrediction.

Compostos	Classe de toxicidade	LD50
Araquidina -1	4	1190mg/kg
Araquidina -2	4	1000mg/kg
Araquidina -3	5	2560mg/kg
arahypin-1	5	2560mg/kg
arahypin-2	5	2320mg/kg
arahypin-3	4	1500mg/kg
arahypin-4	4	1500mg/kg

Legenda: DL50: Dose Letal Mediana.

A triagem da toxicidade aguda é desenvolvida a partir de similaridade química entre compostos com efeitos tóxicos conhecidos e na presença de fragmentos tóxicos¹⁵. O grau de toxicidade é avaliado quantitativamente através do DL50 em mg/Kg do peso corporal. O DL₅₀ é a dose letal mediana, ou seja, a dose necessária para que 50% dos indivíduos em testes morrem após o contado com o composto. Dessa forma, quanto menor o DL50, maior a toxicidade do composto¹⁵. As classes de toxicidade são categorizadas de acordo com o Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação de Rotulagem de Produtos Químicos (GHS) (Tabela 4).

Tabela 4. Categoria de agentes tóxicos a partir da classificação GHS.

Classificação	Categoria	DL50
Classe I	fatal por ingestão	DL50 ≤ 5
Classe II	fatal por ingestão	5 <LD50 ≤ 50
Classe III	tóxico por ingestão	50 <LD50 ≤ 300
Classe IV	nocivo por ingestão	300 <LD50 ≤ 2000
Classe V	pode ser nocivo se ingerido	300 <LD50 ≤ 2000
Classe VI	não tóxico	LD50 > 5000

Legenda: DL50: Dose Letal Mediana.

Para obter o perfil de atividade biológica previsto para os compostos selecionados da *Arachis hipogaea* foi utilizado o servidor PassPrediction¹¹. Esse software avalia o potencial biológico de uma molécula semelhante a uma droga obedecendo aos critérios de Pa e Pi. Sendo que, Pa estima a chance de o composto ser ativo, e Pi estima a chance de o composto ser inativo¹¹. Dos resultados encontrados por esta ferramenta, foram selecionados aqueles com potencial anticancerígenos, os quais estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Provável atividade biológica antineoplásica encontrada para os compostos selecionados da *Arachis hipogaea*.

Composto	Atividade biológica	Pa	Pi
Araquidina-1	Agonista apoptótico	0,845	0,005
	TP53 potencializador	0,752	0,017
	Antineoplásico	0,739	0,02
	Antimutagênico	0,717	0,005
	MMP9 inibidor	0,857	0,002
Araquidina-2	Agonista apoptótico	0,851	0,005
	Antimutagênico	0,795	0,004
	Antineoplásico	0,75	0,018
	TP53 potencializador	0,745	0,018

	JAK2 inibidor	0,845	0,005
	Agonista apoptótico	0,822	0,007
Araquidina-3	TP53 potencializador	0,751	0,017
	Antineoplásico	0,735	0,02
	Antimutagênico	0,713	0,006
	Agonista apoptótico	0,818	0,007
arahypin-1	TP53 potencializador	0,729	0,02
	Antineoplásico	0,727	0,022

Legenda: Pa: Probabilidade de "estar ativo"; Pi: Probabilidade de "ser inativo".

A seleção dos resultados foi baseada em valores de Pa > 0,7 e valores de Pi < 0,05, ou seja, a probabilidade de ser ativo maior que 70% e a probabilidade de ser inativo menor que 5%, respectivamente. Os resultados encontrados para os compostos mostram-se promissores para a ação anticancerígena.

Segundo como base as prováveis atividades biológicas dos compostos, foi realizada a triagem de prováveis alvos biológicos através da verificação virtual da semelhança entre os ligantes conhecidos em um destino específico (alvo). A ferramenta utilizada para essa análise foi o servidor SwissTargetPredicion¹³ e os dados obtidos estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Resultado da predição de alvos biológicos a partir do servidor SwissTargetPredicion¹³ para os prováveis compostos antineoplásicos selecionados da espécie *Arachis hypogaea*.

Composto	Atividade biológica
Araquidina-1	subunidade p110-alfa da proteína quinase P13, Ciclo-oxigenase-1, Receptor alfa de estrogênio
Araquidina-2	Ciclo-oxigenase-2, Ciclo-oxigenase-1 e Receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma
Araquidina-3	Anidrase carbônica II, Anidrase carbônica XII e Anidrase carbônica IX
arahypin-1	Transportador de norepinefrina, Anidrase carbônica VII e Anidrase carbônica III

Após utilizar as ferramentas e análises citadas anteriormente, verificou-se que a Araquidina-1 apresentou os resultados mais promissores e coerentes entre os compostos selecionados da espécie *Arachis hypogaea*, e apontou como

probabilidade mais relevante a atuação na subunidade alfa da proteína quinase P13 relacionada ao câncer de colo retal.

A Araquidina-1 (Ara-1) é um estilbeno derivado do gênero fenilpropanoide. Trata-se de compostos envolvidos no mecanismo de defesa contra agentes físicos e contaminação microbiológica¹⁷. Os estilbenos são sintetizados por uma variedade de espécie¹⁸. Na *Arachis hypogaea*, por exemplo, esses compostos foram encontrados nas folhas, raízes e sementes da espécie¹⁹.

Os estudos de Higgs e colaboradores²⁰ revelam que o amendoim possui valor nutritivo favorável. Além dos fitoquímicos, como fitoesteróis, fenólicos, estilbenos e arginina, a espécie é rica em fibras alimentares, proteínas e micronutrientes, que desencadeia efeitos cardioprotetor, anti-inflamatório e anticancer²⁰. Na China, a pele do amendoim é utilizada para tratar hemorragia crônica e bronquite, enquanto na Nigéria os extratos da planta são utilizados para tratar pacientes diabéticos²¹.

Segundo os estudos realizados por Huang¹², a Ara-1 apresenta sua eficácia como agente anticancerígeno ao induzir a morte celular programada nas células (PCD), por meio de ativação das Caspases. As Caspases são proteases sintetizadas por precursores inativos (pró-caspases) que se tornam ativas quando a célula recebe algum estímulo de morte externo (extrínseco), como por exemplo, radicais livres e agentes químicos e físicos²². Trata-se de uma via alternativa de morte de células cancerígenas com mutações nos principais genes apoptóticos¹².

A Ara-1 também é descrita com potencial anti-inflamatório, apresentando maior potência inibitória à produção de prostaglandina e, portanto, podem ser de suma importância para o desenvolvimento farmacológico de nutracêuticos ou quimio-preventivos. Além disso, estudos também demonstram ação antioxidante da molécula, inibindo a formação de radicais livres e, consequentemente, a formação de tumor²³. Após analisar as predições para atividade biológica da Araquidina-1 e seus alvos, apontou como probabilidade mais relevante a atuação na subunidade alfa da proteína quinase PI3.

As fosfatidilinositol 3-cinases (PI3K) consistem em uma família de cinases lipídicas de superfície celular, as quais tem por função regular as vias de sinalização envolvidas na proliferação e na sobrevivência celular, além da motilidade, adesão celular, diferenciação, rearranjo citoesquelético e tráfico intracelular²⁴.

Os PI3Ks são subdivididos em 3 classes, sendo os PI3K de classe I (IA PI3K) aqueles que compreendem uma subunidade catalítica p110 e uma subunidade adaptadora reguladora²⁵. A subunidade catalítica p110-alfa da fosfatidil-

ositol 3-quinase (PI3K), são codificadas pelo pro-oncogene PIK3CA (subunidade catalítica fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 3-quinase alfa). A ativação da PI3K resulta em uma cascata de fosforização de proteínas envolvidas em diversos processos intracelulares, incluindo antiapoptose²⁵.

Estudos revelam mutações na PIK3CA em vários tipos de câncer humano²⁷. Em um estudo realizado por Samuels²⁸ mostraram que em 25 - 30 % de câncer de colorretal (CCR), aparece mutações somáticas na PIK3CA. Pesquisas realizadas também apontaram que as mutações PIK3CA contribuem para a tumorigênese, e são comumente observadas em cânceres colorretais humanos²⁵.

No câncer de colorretal observa-se comumente a mutação no gene K-ras, que é uma proteína de membrana celular²⁵. Sabendo que a K-ras oncogênico interage e ativa a PIK3CA, a ativação da via de sinalização da PI3K por mutação no gene K-ras ou PIK3CA foi considerada o mecanismo mais prevalente em pacientes com câncer colorretal²⁹. Dessa forma, Khaleghpour²⁹ conclui que, a p110-alfa, que é codificada pelo gene PIK3CA, é um alvo promissor para o desenvolvimento de drogas para o tratamento de câncer colorretal.

Diante de tais evidências na literatura, agregadas aos resultados do presente estudo *in silico*, o composto araquidina-1 foi selecionado para avaliação de potencial de interação com a subunidade catalítica p110- α de PI3K relacionado ao câncer de colorretal.

O câncer de colorretal (CCR) é uma neoplasia que acomete o cólon e/ou reto. É a terceira neoplasia mais frequente no mundo e a segunda causa de morte nos Estados Unidos, tanto em homens quanto em mulheres. Os principais fatores de risco para essa patologia são o consumo excessivo de álcool, ingestão de gordura animal, tabagismo e falta de exercícios físicos³³.

Essa neoplasia é considerada, portanto, uma doença de países ocidentais e industrializados devido ao consumo elevado de carnes, gordura e carboidratos nesses países, por isso a incidência em países como Estados Unidos, Canadá, Austrália e Nova Zelândia³⁴. O consumo elevado de gordura desencadeia o aumento da síntese de ácidos biliares que são mutagênicos e citotóxico³³. Dessa forma, a ingestão de fibras insolúveis representa um fator de proteção contra o câncer, devido a redução da concentração de ácidos biliares e maior velocidade do trânsito intestinal³⁵.

Diante a todo esse contexto, foi realizada uma pesquisa no Banco de Dados de Proteínas (do inglês, Protein Data Bank - PDB). Um banco de dados de proteínas e ácidos nucleicos tridimensionais cristalografados, através da difração de raios X. Buscou-se por meio desse banco de dados a estrutura proteica da subunidade alfa da proteína quinase PI3 humano (p110- α de PI3K) complexado a ligante. Abaixo, na Figura 1, segue sua estrutura tridimensional.



Figura 1. Representação tridimensional da proteína p110-alfa PI3K

Para realizar as simulações de *docking* molecular de ligantes contra a estrutura 3D da proteína alvo foi utilizado o programa MVD (Molegro Virtual Docker). O primeiro passo se deu através do *redocking*, ou seja, verificar se o protocolo de *docking* é suficiente para recuperar as coordenadas atômicas da estrutura cristalográfica do domínio quinase do receptor TRAF2 (p110- α de PI3K) com o inibidor 4-methoxy-3-[2-[(3-methoxy-4-morpholin-4-yl-phenyl) amino]pyridin-4-yl]benzenecarbonitrile. Tal simulação gera uma posição final para o inibidor, posição esta chamada pose, e compara com a posição cristalográfica, conforme mostra a Figura 2 abaixo:

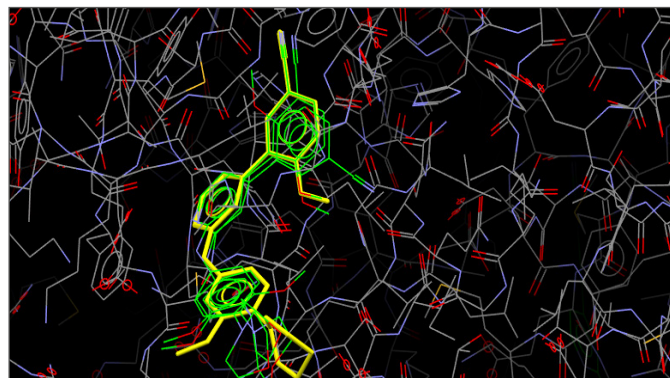


Figura 2. Análise de *redocking* para o alvo PDB ID 5AX9 (domínio quinase do receptor TRAF2) e seu respectivo ligante (4-methoxy-3-[2-[(3-methoxy-4-morpholin-4-yl-phenyl) amino]pyridin-4-yl]benzenecarbonitrile) com as 3 melhores poses com valores de RMSD inferiores a 3.

A distância entre a posição cristalográfica e a posição obtida computacionalmente é chamada RMSD (*root-mean square deviation*). Esta é aferida em Angstrons (Å) e valores menores que 2 Å entre a pose e a posição cristalográfica, indicam sobreposição com grande proximidade. Os valores das 3 poses de referência RMSD para o *redocking* foram próximos de 1, ou seja, é possível verificar elevado grau de concordância entre o modelo empregado e a posição do ligante cristalografado.

A partir desta validação, o modelo empregado no *redocking* foi empregado para a molécula de araquidina-1 para avaliar seu potencial de interação com o alvo 5AX9. Em cada pose são obtidas energias livres de ligação (entre ligante e alvo), onde a menor energia provavelmente justificará a conformação mais estável da interação ligante – alvo e prevê como ocorre a interação da molécula candidata com a cavidade ativa do alvo molecular. Sabe-se que as interações entre um fármaco e seu alvo proteico se dão por intermédio de forças intermoleculares do tipo dipolo-dipolo induzido, dipolo permanente e eventualmente ligações iônicas e covalentes. Dentre as forças dipolo-dipolo permanente estão as ligações de hidrogênio e nas dipolo-dipolo induzido são as forças de Van Der Waals³⁶.

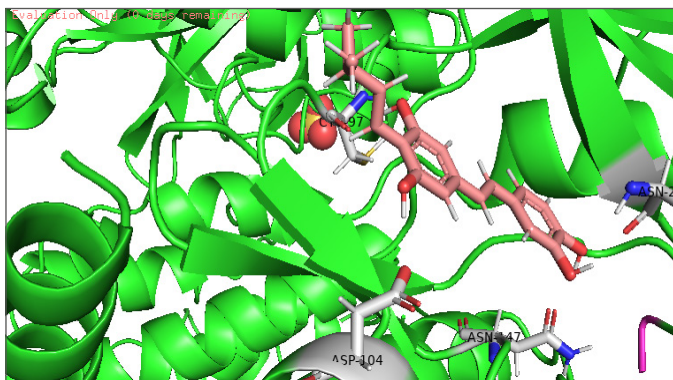


Figura 3. Imagem tridimensional do *docking* molecular da pose 1 (menos energética) da araquidina -1 com o domínio quinase do receptor TRAF2 (A).

A Figura 4 demonstra o perfil em 2 dimensões da interação entre o ligante araquidina-1 e o alvo molecular selecionado 5AX9. É possível identificar principalmente interações de natureza hidrofóbica entre os resíduos alquila dos aminoácidos assinalados e a porção hidrocarbônica do ligante. Além disso, a asparagina 22 e 147, aspartato 147 e cisteína 97 estabelecem ligações de hidrogênio com as hidroxilas da araquidina-1, o que corrobora a possibilidade deste ligante se manter ancorado no sítio ativo do alvo investigado.

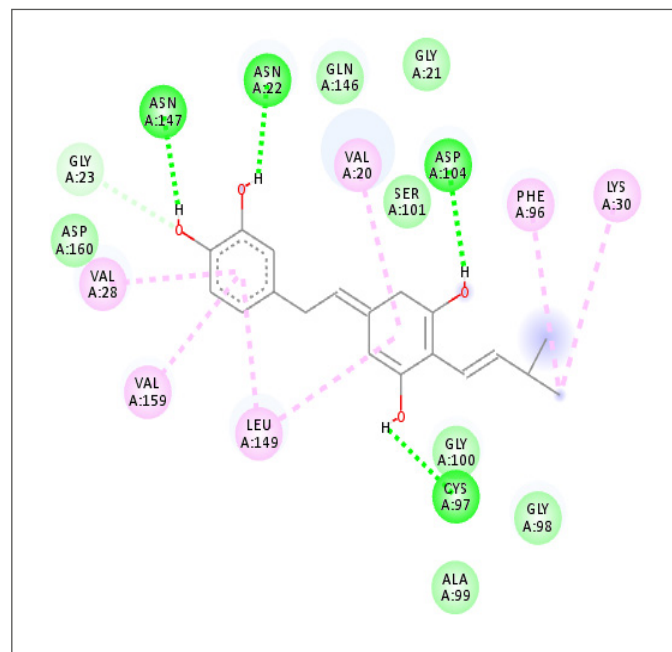


Figura 4. Diagrama de interação 2D entre a Araquidina-1 e a cavidade ativa da proteína PIKCA. Posição com maior escore na pontuação PLP fitness (*Scoring Function CHEMPLP*).

Conclusão

O composto natural Araquidina-1, extraído da espécie *Archis hipogae*, apresenta um amplo espectro de bioatividade. As ferramentas de predição biológica revelaram resultados promissores para o tratamento do câncer de colorretal, por intermédio da molécula araquidina-1. Visto que se trata de um agente que possui estrutura química capaz de interagir e inibir o receptor 5AX9 (subunidade alfa p110 da proteína PI3K), sendo um potencial candidato modificador da doença. A Araquidina-1, é portanto, um interessante ponto de partida para futuras investigações cujo objetivo é obter novas estratégias terapêuticas para o tratamento câncer de colorretal.

Referências

1. Firmo, W. C. A., Menezes, V. J. M., Passos, C. E. C., Dias, C. N., Alves, L. P. L., Dias, I. C. L., ... & Olea, R. S. G. (2011). Historical context, popular use and scientific conception on medicinal plants. *Cad Pesq*, 18, 90-5.
2. Da Cunha, A. P. (2003). Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes activos e fitoterapia. da Cunha AP, da Silva AP, Roque OR. *Plantas e produtos vegetais em fitoterapia*. 4ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
3. Trindade, E. O. D. (2017). Do uso popular à concepção científica: plantas medicinais como tema contextual-

- izador no ensino de química orgânica.
4. Graciano, E. S. A. (2009) Estudos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetidas à deficiência hídrica. UFRP, Recife, fev.
 5. Braga, G. C., Melo, P. S., Bergamaschi, K. B., Tiveron, A. P., Massarioli, A. P., & Alencar, S. M. D. (2016). Extraction yield, antioxidant activity and phenolics from grape, mango and peanut agro-industrial by-products. *Ciência Rural*, 46, 1498-1504.
 6. Lopes RM, Agostini-Costa T da S, Gimenes MA, Silveira D. Chemical Composition and Biological Activities of *Arachis* Species. *J Agric Food Chem* [Internet]. 11 de maio de 2011;59(9):4321-30.
 7. Buzzi, F. D. C. (2007). Síntese de novas moléculas com potencial terapêutico: imidas cíclicas, chalconas e compostos relacionados.
 8. Jarrahpour A, Fathi J, Mimouni M, Hadda T Ben, Sheikh J, Chohan Z, et al. Petra, Osiris and Molinspiration (POM) together as a successful support in drug design: antibacterial activity and biopharmaceutical characterization of some azo Schiff bases. *Med Chem Res* [Internet]. 9 de agosto de 2012;21(8):1984-90.
 9. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* [Internet]. 3 de maio de 2017;7(1):42717.
 10. Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2 de julho de 2018;46(W1):W257-63.
 11. Lagunin A, Stepanchikova A, Filimonov D, Poroikov V. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics* [Internet]. 1 de agosto de 2000;16(8):747-8.
 12. Huang C-P, Au L-C, Chiou RY-Y, Chung P-C, Chen S-Y, Tang W-C, et al. Arachidin-1, a Peanut Stilbenoid, Induces Programmed Cell Death in Human Leukemia HL-60 Cells. *J Agric Food Chem* [Internet]. 8 de dezembro de 2010;58(23):12123-9.
 13. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2 de julho de 2019;47(W1):W357-64.
 14. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings 1PII of original article: S0169-409X(96)00423-1. The article was originally published in *Advanced Drug Delivery Reviews* 23 (1997). *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. março de 2001;46(1-3):3-26.
 15. Drwal, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R., & Preissner, R. (2014). ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic acids research*, 42(W1), W53-W58.
 16. Ruppenthal, J.E. (2013). *Toxicologia*. Universidade Federal de Santa Maria, Colégio Técnico Industrial de Santa Maria. Rede e-Tec Brasil.
 17. Pendse, R; Rao A.V; Venkataraman, K. 5,7-Dihydroxychromone from *Arachis hypogaea* shells. *Phytochemistry*, v. 12, p. 2033-2034, 1973.
 18. Cassidy A, Hanley B, Lamuela-Raventos RM. Isoflavones, lignans and stilbenes - origins, metabolism and potential importance to human health. *J Sci Food Agric* [Internet]. 15 de maio de 2000;80(7):1044-62.
 19. Tokuşoglu O, Unal MK, Yemiş F. Determination of the phytoalexin resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) in peanuts and pistachios by high-performance liquid chromatographic diode array (HPLC-DAD) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *J Agric Food Chem* [Internet]. 15 de junho de 2005;53(12):5003-9.
 20. Higgs J. The beneficial role of peanuts in the diet – Part 2. *Nutr Food Sci* [Internet]. abril de 2003;33(2):56-64.
 21. Lou H, Yamazaki Y, Sasaki T, Uchida M, Tanaka H, Oka S. A-type proanthocyanidins from peanut skins. *Phytochemistry*. 1999;51(2):297-308.
 22. Spanos, S., Rice, S., Karagiannis, P., Taylor, D., Becker, DL, Winston, RML, & Hardy, K. (2002). Atividade de caspase e expressão de genes de morte celular durante o desenvolvimento de embriões humanos pré-implantação. *REPRODUCTION-CAMBRIDGE*, 124 (3), 353-363.
 23. Chang J-C, Lai Y-H, Djoko B, Wu P-L, Liu C-D, Liu Y-W, et al. Biosynthesis Enhancement and Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Arachidin-1, Arachidin-3, and Isopen-tadienylresveratrol. *J Agric Food Chem* [Internet]. dezembro de 2006;54(26):10281-7.
 24. Cantley LC. The Phosphoinositide 3-Kinase Pathway. *Science* (80-) [Internet]. 31 de maio de 2002;296(5573):1655-7.
 25. Ikenoue, Tsuneo, et al. "Análise funcional das mutações do gene PIK3CA no câncer colorretal humano." *Cancer research* 65.11 (2005): 4562-4567.

26. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase–AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* [Internet]. julho de 2002;2(7):489–501.
27. Gallia, G. L., Rand, V., Siu, I. M., Eberhart, C. G., James, C. D., Marie, S. K., ... & Riggins, G. J. (2006). PIK3CA gene mutations in pediatric and adult glioblastoma multiforme. *Molecular Cancer Research*, 4(10), 709-714.
28. Samuels Y. High Frequency of Mutations of the PIK3CA Gene in Human Cancers. *Science* (80-) [Internet]. 23 de abril de 2004;304(5670):554–554.
29. Khaleghpour K, Li Y, Banville D, Yu Z, Shen SH. Involvement of the PI 3-kinase signaling pathway in progression of colon adenocarcinoma. *Carcinogenesis*. 2004 Feb;25(2):241-8. doi: 10.1093/carcin/bgg195. Epub 2003 Oct 24. PMID: 14578160.
30. Dong, Xin et al. Metamorphic rocks of the causes of southeastern Lhasa terrane and the Mesozoic - Cenozoic orogeny. *Acta Petrologica Sinica*, v. 28, n. 6, p. 1765–1784, 2012.
31. Xin, D., ZeMing, Z., Feng, L., Wei, W., Fei, Y., YanHao, L., ... & ZhenYu, H. (2012). Genesis of the metamorphic rock from southeastern Lhasa terrane and the Mesozoic-Cenozoic orogenesis. *Acta Petrologica Sinica*, 28(6), 1765-1784.
32. Rodriguez-Viciana, P et al. A fosfatidilinositol-3-OH quinase como alvo direto de Ras. *Nature* (Lond). v. 32, p. 370 : 527, 1994.
33. Marley AR, Nan H. Epidemiology of colorectal cancer. *Int J Mol Epidemiol Genet* [Internet]. 2016;7(3):105–14.
34. Sung JJ, Lau JY, Goh K, Leung W. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening. *Lancet Oncol* [Internet]. novembro de 2005;6(11):871–6.
35. Stigliano V. Early-onset colorectal cancer: A sporadic or inherited disease? *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014;20(35):12420.
36. Florence, AT. Princípios Físico-Químicos em Farmácia Vol. 4. Edusp, 2003.
37. Martling A, Smedby KE, Birgisson H, Olsson H, Granath F, Ekbom A, et al. Risk of second primary cancer in patients treated with radiotherapy for rectal cancer. *Br J Surg* [Internet]. 3 de fevereiro de 2017;104(3):278–87.

Interface entre a urocultura, o EAS e o hemograma nas infecções do trato urinário

Interface between uroculture, AES and hemogram in urinary tract infections

Alexandre Henrique Nunes de Moraes¹, Lidyanne Camelo Feliciano¹, Rebeca Jacob de Lima¹, Rizia Jacob de Lima¹, Alessandra Marques Cardoso^{1,2,3}

¹ Faculdade da Polícia Militar – FPM

² Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

³ Secretaria de Estado da Saúde de Goiás – SES-GO

Resumo

As infecções do trato urinário (ITU) são causadas pela colonização bacteriana de um sítio anatômico que deveria ser estéril. Tais infecções podem afetar tanto o trato urinário inferior causando cistite, como o trato urinário superior causando pielonefrite. Este estudo objetivou pesquisar alterações no EAS (elementos anormais e sedimentoscopia) e no leucograma de pacientes com urocultura positiva, e verificar o sexo, a faixa etária e os principais patógenos isolados nas uroculturas realizadas no Laboratório Clínico do Hospital do Policial Militar de Goiás (HPM). Foi realizado um estudo retrospectivo baseado em uma criteriosa análise de dados coletados no Laboratório do HPM, os quais foram extraídos dos resultados dos exames de urocultura, EAS e leucograma, no período compreendido entre janeiro/2020 e janeiro/2021. Os dados referentes ao sexo e idade dos indivíduos, bem como os patógenos envolvidos nas infecções também foram pesquisados. Como resultado do estudo, constatou-se que 14,3% dos pacientes apresentaram resultado positivo para o exame de urocultura, os quais 93,0% pertenciam ao sexo feminino e 7,0% ao sexo masculino. Com relação aos uropatógenos isolados, notou-se que *Escherichia coli* contabilizou 73,7% das culturas positivas. Houve uma grande sensibilidade no exame de EAS, mais especificamente no nitrito e na leucocitúria, os quais se alteraram concomitantemente com a urocultura em 75,7% dos casos. Por outro lado, houve uma percepção de que 11,2% dos pacientes apresentaram alteração no exame de leucograma. Em uma análise geral, 9,1% dos pacientes apresentaram alteração em ambos os exames analisados. Com isso, concluiu-se que a urocultura se manteve como padrão ouro de diagnóstico para ITU, o nitrito e a leucocitúria, analitos do EAS, podem ser considerados fortes indicativos de dados para o diagnóstico e o leucograma, um fraco indicativo para este fim.

Palavras-chave: Infecções urinárias; *Escherichia coli*; Diagnóstico laboratorial; Nitrito.

Abstract

Urinary tract infections (UTI) are caused by bacterial colonization of an anatomical site that should be sterile. Such infections may affect both the lower urinary tract causing cystitis, as well the upper urinary tract causing pyelonephritis. This study aimed to investigate changes in the AES (abnormal elements and sedimentoscopy) and white blood cell count of patients with positive urine cultures, and to verify the sex, age group and the main pathogens isolated in urine cultures performed at the Clinical Laboratory of the Hospital do Policial Militar de Goiás (HPM). A retrospective study was carried out based on a careful analysis of data collected at the HPM Laboratory, which were taken from the results of uroculture, AES and white blood cell tests, in the period between January 2020 and January 2021. The data regarding their sex and age, as well as the pathogens involved in the alterations, were also collected. As a result of the study, it was found that 14.3% of the patients had a positive result for the uroculture test, of which 93.0% were female and 7.0% male. Regarding the pathogen species, it was noted that the most relevant was *Escherichia coli* accounting for 74.1% of positive cultures. There was great sensitivity in the AES test, more specifically in nitrite and leukocyturia, which changed con-

Contato para correspondência:

Alessandra Marques Cardoso

E-mail:

alearquespuc@gmail.com

Conflito de interesse: Não

Financiamento: Recursos próprios

Recebido: 26/11/2021

Aprovado: 07/12/2021



comitantly with urine culture in 75.7% of cases. On the other hand, there was a perception that 11.2% of patients had changes in the WBC test. In a general analysis, 9.1% of the patients presented alterations in both analyzed exams. Thus, it was concluded that uroculture remained the gold standard for diagnosis for UTI. Nitrite and leukocyturia, analytes of the AES, may be considered strong indicatives of data for diagnosis and leukogram, a weak indicative for this purpose.

Keywords: Urinary Tract Infections; *Escherichia coli*; Clinical Laboratory Techniques; Nitrite.

Introdução

As infecções do trato urinário (ITU), as quais estão classificadas como as infecções mais comuns que acometem os seres humanos¹, são causadas pela colonização bacteriana de um sítio anatômico que deveria ser estéril, com exceção da parte distal da uretra, que pode apresentar bactérias aeróbias e anaeróbias, as quais contribuem para proteção contra agentes patogênicos nesta região². As ITU podem ser divididas em dois tipos: infecção das vias urinárias baixa, cistite e/ou uretrite, e alta, pielonefrite³.

Três faixas etárias mais afetadas pelas infecções urinárias são recém-nascidos do sexo masculino, por apresentarem alguma deformidade anatômica ou funcional do aparelho urinário, mulheres jovens com vida sexual ativa, por possuírem a uretra menor e mais próxima do ânus, o que as tornam mais sensíveis a este tipo de infecção⁴, e homens entre 50 e 60 anos que possuem algum distúrbio de próstata⁵. Há também muitos fatores que propiciam a ITU, como higiene inadequada, *diabetes mellitus*, anomalias no aparelho urinário, entre outros⁶.

A urocultura é um método considerado “padrão ouro” para o diagnóstico de ITU, mas outros exames são utilizados para auxiliar na análise destas infecções para que ela seja mais precisa e eficaz¹. Neste quesito, destaca-se o uso dos Elementos Anormais e Sedimentoscopia (EAS), o qual é composto pela análise física, química qualitativa e microscópica da urina e, o hemograma, com ênfase no leucograma, o qual está relacionado à resposta inflamatória, provocando um aumento do número de leucócitos⁸⁻¹⁰.

Para a realização da urocultura, a amostra de urina considerada adequada é a de jato médio^{11,12}. O procedimento consiste na inoculação da amostra de urina em placas com meio seletivo (ágar MacConkey ou ágar *Eosin Methylene Blue*) e em meio não seletivo (ágar CLED), pelo método de esgotamento de alça e varredura, respectivamente, utilizando a alça calibrada de platina ou de plástico, de diâmetro 0,001 mL ou 0,01 mL. Os meios de cultura inoculados são incubados entre 35°C e 37°C durante 18 a 24 horas¹³. Após esse período, é realizada a contagem de colônias bacterianas. O diagnóstico de ITU será confirmado a partir de uma contagem de colônias igual ou superior a 100.000 UFC/mL de urina¹⁴.

Os patógenos mais prevalentes nas ITU são as bactérias Gram negativas, estando em primeiro lugar a *Escherichia coli*, seguida de *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp., *Proteus* spp.

e *Pseudomonas* spp. Outro importante uropatógeno é o *Staphylococcus saprophyticus*, um coco Gram positivo, que está mais frequentemente relacionado a quadros de ITU não complicadas. Quando há crescimento de mais de um microrganismo na urocultura, é muito rara a infecção ser verdadeira, pois geralmente esse evento se dá pela contaminação bacteriana, com crescimento de microrganismos como *Streptococcus* alfa-hemolíticos, *Lactobacilos*, *Gardnerella* e espécies de *Corynebacterium*^{5,7,15}.

O EAS é um exame muito importante na indicação de infecção urinária¹⁶. A amostra de urina recomendada é o jato médio, de preferência a primeira do dia¹⁷. O nitrito e a esterase leucocitária são os marcadores da análise bioquímica, examinados pela fita reagente, com razoável precisão e exatidão comparados com a urocultura quantitativa¹⁸. Para que o nitrito seja positivo deve haver nitrato na urina, quantidade adequada de bactérias conversoras destes em nitrito e tempo para a conversão⁷.

Um teste positivo de esterase leucocitária corresponde a aproximadamente 8 a 10 leucócitos por campo de grande aumento^{7,19}. A leucocitúria contribui para a triagem de ITU, sendo que a sua contagem no microscópio maior que 10.000 leucócitos/mL pode indicar a presença de infecção bacteriana². De acordo com Fonseca *et al.*¹, a maioria das uroculturas positivas, cerca de 78,0%, apresenta correlação positiva com a leucocitúria aumentada (valores superiores a 10.000/mL), ressaltando a importância da sedimentoscopia urinária.

O hemograma é um exame que avalia o conjunto de células sanguíneas. Trata-se de um dos testes mais realizados na rotina laboratorial, sendo de grande importância por fornecer informações que são relevantes no diagnóstico de diversas patologias, sejam elas inflamatórias ou infecciosas, dentre outros distúrbios hematológicos. Em casos de infecção, os leucócitos são as principais células sanguíneas que atuam, em conjunto, na defesa do organismo. Logo, a contagem diferencial de leucócitos se torna necessária para nortear o tipo de invasão microbiana^{20,21}.

As infecções bacterianas estimulam a produção de neutrófilos²², os quais são responsáveis tanto pelo desenvolvimento quanto pela modulação da resposta de inflamações agudas. Estes compõem a barreira do sistema imune e estão em maior quantidade na circulação²³. A produção e a maturação dos neutrófilos ocorre na medula óssea, a qual pode liberar células imaturas

dependendo do nível de infecção¹⁰. Em alguns casos, como, por exemplo, em pacientes transplantados, o número de neutrófilos e a sua função tendem a estar reduzidos devido ao uso de certos tipos de drogas, como os corticosteroides²⁴.

Neste cenário, este estudo objetivou pesquisar alterações no EAS e no leucograma de pacientes com urocultura positiva, e verificar o sexo, a faixa etária e os principais patógenos isolados nas uroculturas realizadas no Laboratório Clínico do Hospital do Policial Militar de Goiás.

Métodos

Este foi um estudo descritivo transversal retrospectivo, no qual foi feita a análise dos resultados de exames de urocultura realizados na seção de Microbiologia, EAS em Líquidos Corporais e hemograma na seção de Hematologia, coletados do banco de dados do Laboratório Clínico do Hospital do Policial Militar de Goiás (HPM-GO), em Goiânia-GO. Os exames pesquisados foram realizados entre janeiro/2020 e janeiro/2021, e a coleta em banco de dados foi executada no mês de março/2021 no Laboratório do HPM-GO.

Para a realização dos exames de urocultura e EAS, foi utilizado o jato médio da primeira urina da manhã. Amostras com contagem de colônias igual ou superior a 100.000 UFC/mL foram consideradas positivas. Após o isolamento dos microrganismos, procedeu-se a identificação bioquímica e realizou-se o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos.

No EAS foram feitas as análises física, química e microscópica. Foi considerada leucocitúria em amostras de urina com leucócitos acima de 10.000/mL. Para o hemograma, foram utilizadas amostras de sangue periférico coletado em tubo com o anticoagulante EDTA, sendo considerado leucocitose em amostras com leucócitos acima de 11.000/mm³ e a contagem das células sanguíneas foi realizada a partir de métodos automatizados. Logo em seguida, foi feito o esfregaço sanguíneo em lâmina para avaliação microscópica.

Os dados foram tabelados em planilha eletrônica *Excel* de acordo com os laudos dos exames emitidos pelo Laboratório do HPM. Esta foi organizada em três abas, correspondendo aos resultados de uroculturas, EAS e leucogramas, respectivamente. Adicionalmente, foram acrescentadas à planilha *Excel* os seguintes dados dos pacientes: idade e sexo.

Foi resguardada a privacidade e a confidencialidade dos dados dos pacientes, uma vez que os mesmos não foram identificados. Salienta-se que o projeto foi cadastrado na Plataforma Brasil e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital e Maternidade Dona Íris, sob o parecer número 3.823.710 de 05/02/2020, atendendo às exigências da Resolução 466/12.

No período estudado foram realizadas 858 uroculturas, sendo 735 (85,7%) negativas e 123 (14,3%) positivas. Das uroculturas positivas foram excluídos os resultados de pacientes que não realizaram

pelo menos um dos seguintes exames: EAS e/ou hemograma. Dessa forma, foram selecionadas as uroculturas positivas de 114 pacientes, sendo que destas, 77 apresentaram concomitantemente resultados de EAS e hemograma, 34 apenas EAS, e três apenas hemograma.

Resultados

Das 114 amostras de uroculturas positivas, 106 (93,0%) pertenciam ao sexo feminino e oito (7,0%) ao masculino. Foi calculada a média de idade desses pacientes, observando-se que no sexo feminino a idade variou de 15 a 91 anos, com média de idade igual a 49 anos. Em relação ao sexo masculino, a variação de idade foi de 27 a 85 anos, com média de idade igual a 66 anos. Considerando ambos os sexos, a idade dos pacientes variou de 15 a 91 anos, sendo a média de idade geral equivalente a 50 anos.

Quanto à prevalência dos microrganismos isolados nas uroculturas, observou-se 84 (73,7%) isolados de *Escherichia coli*, nove (7,9%) de *Klebsiella aerogenes*, cinco (4,4%) de *Staphylococcus aureus*, três (2,6%) de *Enterococcus* spp. e 13 (11,4%) de outros microrganismos, a saber: *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* spp., *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus saprophyticus*.

Do global de 114 pacientes com urocultura positiva, foram obtidos resultados de 111 amostras de EAS. Destes, 84 (75,7%) tiveram alteração neste exame, sendo que 72 (85,7%) continham leucocitúria acima de 10.000/mL e 48 (57,1%) possuíam nitrito positivo, como mostrado na Figura 1. Os resultados da pesquisa da esterase leucocitária no EAS não estavam disponíveis no banco de dados consultado.

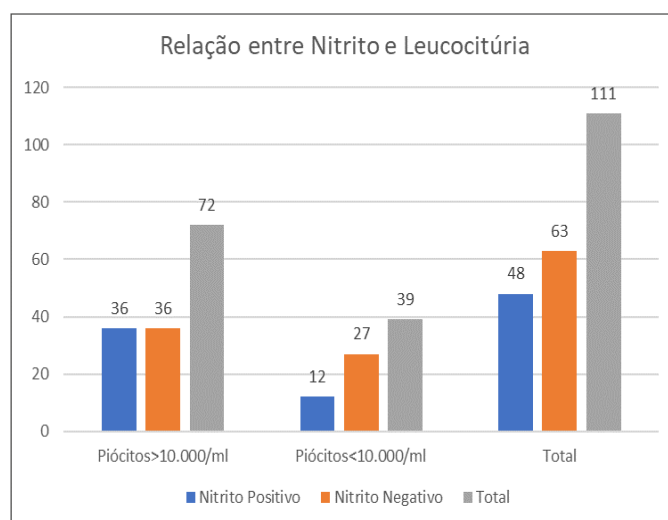


Figura 1. Relação entre nitrito positivo e negativo e a contagem de leucócitos em urinas de pacientes do Laboratório Clínico do HPM-GO, entre janeiro/2020 e janeiro/2021.

Em relação ao hemograma, 80 pacientes realizaram este exame, sendo que nove (11,2%) exames apresentaram número de leucócitos acima de $11.000/\text{mm}^3$.

Dos pacientes que realizaram EAS e/ou hemograma, 77 (66,4%) apresentaram resultados de EAS e hemograma concomitantemente. Destes, sete (9,1%) obtiveram alterações em ambos os exames, sendo encontrados no EAS alterações no nitrito e/ou leucocitúria e no hemograma, contagem de leucócitos acima de $11.000/\text{mm}^3$. Nas Figuras 2 e 3 estão apresentadas as relações entre nitrito e leucograma e, leucocitúria e leucograma, respectivamente.

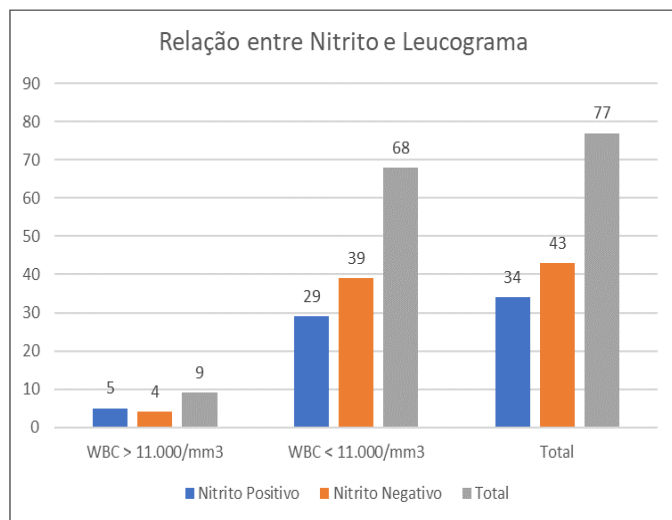


Figura 2. Relação entre nitrito positivo e negativo com a contagem global de leucócitos em hemograma de pacientes do Laboratório Clínico do HPM-GO, entre janeiro/2020 e janeiro/2021.

*Legenda: WBC = Contagem de leucócitos.

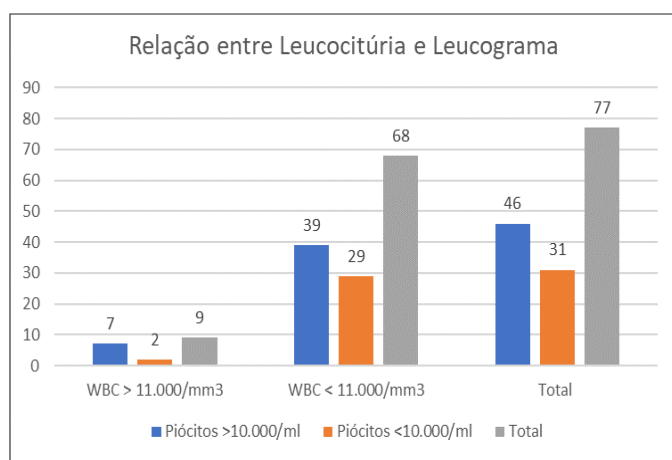


Figura 3. Relação entre contagem de leucócitos urinários e contagem global de leucócitos em hemograma de pacientes do Laboratório Clínico do HPM-GO, entre janeiro/2020 e janeiro/2021.

*Legenda: WBC = Contagem de leucócitos.

Discussão

As ITU podem ser classificadas de acordo com o nível de invasão bacteriana no hospedeiro, sendo elas infecção do aparelho geniturinário baixo e alto, sendo que a primeira apresenta menor comprometimento do hospedeiro²⁵. Como apresentado nos resultados, no período estudado, 14,3% das uroculturas apresentaram resultado positivo para o crescimento de diversos uropatógenos. Nesse quesito, pode-se destacar que a infecção urinária é uma enfermidade de elevada relevância e que deve ser analisada com maior frequência e atenção.

Em relação ao sexo dos pacientes, num total de 114 amostras positivas analisadas, foi observado maior número de positividade para ITU em pacientes do sexo feminino, sendo 93,0%, e menor número de infecção no sexo masculino (7,0%). O sexo feminino apresenta maior suscetibilidade à aquisição de ITU em razão da anatomia do sistema urinário da mulher, em que a uretra feminina é mais próxima do ânus, facilitando assim a contaminação por bactérias presentes neste sítio anatômico^{4,25}.

No que diz respeito à idade, no sexo feminino as ITU prevaleceram em pacientes com média de 49 anos de idade, o que é justificável por apresentarem vida sexual ativa⁴. Já nos homens, a média de idade foi de 66 anos, o que pode estar relacionado com algum distúrbio de próstata⁵, o que é muito prevalente em homens nesta faixa etária e também, por questões de higiene inadequada e outras comorbidades, como por exemplo, o *diabetes mellitus*⁶.

No presente estudo, observou-se também a elevada prevalência da *E. coli* (73,7%), o que não é diferente do observado em outros estudos, como no de Sato *et al.*, o qual apresentou 61,2% de uroculturas positivas por *E. coli*, prevalecendo a mesma sobre as demais bactérias, bem como no estudo de Malinowski & Estrillo, onde predominou a *E. coli* apresentando um percentual de 82,5% de infecção. Isso ocorre devido ao fato de que esse microrganismo faz parte da microbiota normal do intestino humano, sendo excretado nas fezes.²⁶

As infecções urinárias são enfermidades de rápida progressão e agravo, podendo gerar complicações clássicas, chegando até mesmo à sepse, se não tratadas de forma rápida e eficiente²⁴. O exame de urocultura realizado no HPM disponibiliza ao médico o perfil de suscetibilidade do microrganismo isolado frente aos antimicrobianos, isto faz com que o tratamento seja eficaz, evitando ou diminuindo a possibilidade do desenvolvimento de resistência antimicrobiana.

O exame de EAS deve ser considerado um exame de triagem, devido ao fato de apresentar correlações significativas com a urocultura, porém deve-se destacar que não é confirmatório para ITU, devido a ocorrências de alterações

ocasionadas por outros fatores que não ITU. O nitrito, por exemplo, é um marcador importante para nas ITU, porém pode apresentar-se alterado em amostras processadas com um período superior a duas horas após a coleta em temperatura ambiente ou em 24 horas em ambiente refrigerado^{1,2}.

Quando analisado o exame de EAS, nota-se um padrão de alterações ligadas à formação da esterase leucocitária, contagem microscópica de leucócitos e conversão do nitrato em nitrito. Como mencionado, de 111 pacientes com urocultura positiva que haviam realizado o exame de EAS, 72 (85,7%) apresentaram o número de leucócitos na urina aumentado e 48 (43,2%) resultado positivo para nitrito, apresentando assim, uma alta relação deste exame com a urocultura. Com isso, ressalta-se a importância de um aprofundamento diagnóstico em pacientes que apresentem no exame de EAS alteração em um desses analitos.

O hemograma é um exame composto por três determinações básicas que compreendem as avaliações dos eritrócitos (eritrograma), dos leucócitos (leucograma) e das plaquetas (plaquetograma). Os leucócitos sanguíneos aumentam sua contagem global e diferencial em infecções de um modo geral, sendo os neutrófilos as células responsáveis pelo combate bacteriano, portanto a que aumenta mais expressivamente sua contagem. Devido a isto, o leucograma figura-se como um importante exame no diagnóstico de agravos de ITU, tendo em vista que uma maior quantidade de leucócitos será mobilizada no combate daquele patógeno²².

Com relação à utilidade dos resultados do leucograma nas ITU, considerou-se uma baixa relação a partir das análises de dados, tendo em vista que, dos pacientes com urocultura positiva, nove (11,2%) apresentaram leucocitose. E dentre os pacientes com alteração nos resultados do leucograma, os isolados bacterianos foram: *E. coli* presente em oito (88,9%) amostras e *K. aerogenes* em uma (11,1%) amostra.

De modo geral, notou-se maior relevância do exame de EAS para fins de triagem para ITU, por este apresentar alterações significativas em determinados analitos, como positividade do nitrito e leucocitúria acima de 10.000/mL em pacientes com urocultura positiva. Já o hemograma, especificamente o leucograma, é um marcador que não apresentou relevância na diagnose de ITU, por apresentar um número baixo de leucocitose em pacientes com urocultura positiva. Porém, nesse mesmo sentido, reafirma-se que, para um diagnóstico mais fidedigno, é necessária a realização da urocultura, tendo em vista que esta figura-se como um método padrão ouro para diagnóstico laboratorial das ITU^{2,14}.

Conclusão

Concluiu-se que o nitrito e a leucocitúria foram analitos do EAS importantíssimos para investigação de ITU. Estes parâ-

metros, porém, não são confirmatórios, sendo considerados exames de triagem. O leucograma foi considerado um marcador de baixa relevância para pacientes com urocultura positiva.

As ITU foram prevalentes no sexo feminino, devido à anatomofisiologia genital feminina, e a média de idade destas pacientes foi equivalente a 49 anos, com variação de idade entre 15 e 91 anos, faixa etária em que as mulheres normalmente apresentam vida sexual ativa. Já no sexo masculino, a média de idade dos pacientes com ITU foi de 66 anos, variando entre 27 e 85 anos, fase em que os homens geralmente possuem distúrbios de próstata e, para ambos os sexos, a média foi de 50 anos.

A *E. coli* foi o uropatógeno mais frequente, tendo sido isolado em 73,7% das uroculturas realizadas no HPM e a urocultura manteve-se como padrão ouro para o diagnóstico laboratorial das ITU.

Referências

1. Fonseca FLA, Santos PM, Belardo TMG, Fonseca ALA, Caputto LZ, Alves BCA, et al. Análise de leucócitos em urina de pacientes com uroculturas positivas. RBAC. 2016;48(3):258-61.
2. Oliveira LCA, Souto RCF. Prevalência de infecção do trato urinário em pacientes ambulatoriais e sua relação com os valores de nitrito e leucócitos. RBAC. 2018;50(3):237-43.
3. Silva CHPM, Lins AP, Souza DR, Cruz CSO, Bergamaschi GC. Desenvolvimento e utilização de conservante químico em amostras de urina para análises microbiológicas (urocultura) e rotina (E.A.S.). RBAC. 2005;37(3):137-147.
4. Costa TS, Cardoso AM. Escherichia coli em uroculturas de pacientes comunitários: prevalência e perfil de suscetibilidade antimicrobiana. RBAC. 2020;52(1):82-6.
5. Heilberg IP, Schor N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – Itu. Rev. Assoc. Med Bras. 2003;49(1):109-16.
6. Tosetto AT. Análise de elementos anormais do sedimento urinário (EAS) e bacterioscopia em estudantes universitárias de uma instituição de ensino superior de Sinop - MT. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Sinop: Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde. 2018.
7. Sato AF, Svidzinski AE, Consolaro MEL, Boer CG. Nitrito urinário em infecção do trato urinário por cocos gram positivos. J Bras. Patol. Med Lab. 2005;41(6):397-404.
8. Heggendorrn LH, Silva NA, Cunha GA. Urinálise: a importância da sedimentoscopia em exames físico-químicos normais. REB. 2014;7(4):431-443.

9. Francischetti I, Moreno JB, Scholz M, Yoshida WB. Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão. *Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.* 2010;25(4):575-584.
10. Lorenzi TF. Manual de Hematologia Propedêutica e Clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.
11. Valente SMTB. Estudo sobre colheita de urina para cultura. *Rev. Esc. Enf.* 1983;7(3):253-274.
12. Angerami ELS, Santesso M, Oliveira BM, Boemer MR. Avaliação da técnica de colheita de urina asséptica em mulheres. *Rev. Bras. Enf.* 1975;28(1):60-64.
13. Brasil, ANVISA – Principais Síndromes Infecciosas, Módulo I, 2004.
14. Masson LC, Martins LV, Gomes CM, Cardoso AM. Diagnóstico laboratorial das infecções urinárias: relação entre a urocultura e o EAS. *RBAC.* 2020;52(1):77-81.
15. Malinovski E, Estrillo ALA. Bactérias mais frequentes em infecções do trato urinário. *RESMA.* 2021;12(1):121-134.
16. Jeff A, Simerville MD, William C, Maxted MD, John J, Pahira MD. Urinalysis: A Comprehensive Review. *Am. Fam. Physician.* 2005;71(6):1153-1162.
17. Queiroz BVMF. Exame de urina: Uma revisão. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Cuité: Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande-Campus Cuité. 2016.
18. Devillé WL, Yzermans JC, Van Duijn NP, Bezemer PD, Van Der Wind DA, Bouter LM. The urine dipstick test useful to rule out infections. A meta-analysis of the accuracy. *BMC Urology.* 2004; 4:1-14.
19. Barros E, Manfro RC, Thomé F, Gonçalves LF. Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento. 2a ed. Artmed. 1999;4:59-61.
20. Moreira CLG, Oliveira MC, Alves FEF, Correia FMA. A importância da realização do hemograma para triagem de anemias em pessoas da terceira idade: uma revisão bibliográfica. *Temas em Saúde.* 2020;20(6):7-24.
21. Santos JS. Análise do leucograma como preditor de mortalidade na infecção presumida e na sepse. Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente). Univille: Universidade da região de Joinville. 2019.
22. Mota IS, Castro FFS. Relação da reação leucemoide neutrofílica com doenças infecciosas. Monografia (Graduação em Biomedicina). Faculdade de Educação e Ciências da Saúde, Centro Universitário de Brasília, 2020.
23. Silva IC. Neutrófilos: aspectos clássicos, plasticidade e novas funções imunorregulatórias. *Rev. Interdisciplin. Estud. Exp. Anim. Hum.* 2015;7:35-46.
24. David CMN. Infecção em UTI. Ribeirão Preto, Simpósio: Medicina Intensiva: I. Infecção e Choque. 1998;(31):337-348.
25. Lopes HV, Tavares W. Diagnóstico das infecções do trato urinário. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2005;51(6).
26. Drumond SN, Santiago AF, Moreira M, Lanna MCS, Roeser HMP. Identificação molecular de *Escherichia coli* diarreiogênica na Bacia Hidrográfica do Rio Xopotó na região do Alto Rio Doce. *Eng. Sanit. Ambient.* 2018;23(3):579-590.

RBMC

REVISTA BRASILEIRA MILITAR DE CIÊNCIAS

Realização

