



Revista Brasileira de Pesquisa em Ciência da Saúde

ISSN: 2446-5577





Revista Brasileira de Pesquisa em Ciência da Saúde

ISSN: 2446-5577



**RBP eCS; v.8, n. 15 (2021)**

# REVISTA BRASILEIRA DE PESQUISA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - RBPECS

## Endereço postal

Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde –  
RBPeCS  
Guará I, QE 11 – Área Especial C/D/E, Brasília – DF,  
CEP 71020-621  
Brasília - Distrito Federal – Brasil

## Contato Principal

**Aparecido Pimentel Ferreira**  
Doutor  
Centro Universitário ICESP  
Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde –  
RBPeCS  
Guará I, QE 11 – Área Especial C/D/E, Brasília – DF,  
CEP 71020-621, NIP / Subsolo1, Sala 2  
Brasília - Distrito Federal - Brasil  
Telefone: 61 35749950  
E-mail: [nip@icesp.edu.br](mailto:nip@icesp.edu.br)

## Contato para Suporte Técnico

**Luciane Teixeira**  
Telefone: 61 3574-9950  
E-mail: [atendimentonip@icesp.edu.br](mailto:atendimentonip@icesp.edu.br)

## Editor Chefe

1. Dr. Aparecido Pimentel Ferreira, Centro  
Universitário ICESP, Brasília – DF, Brasil.

## Editor de Redação

1. Prof. Alessandro Campos Piantino, Centro  
Universitário ICESP, Brasília – DF, Brasil.

## Editor Assistente

1. Dr. Nilo Serpa, Centro Universitário ICESP, Brasil.
2. Me. Heitor Siqueira Ribeiro, Universidade de  
Brasília (UnB), Brasil.

## Editor Assistente

1. Senhor Marvery Duarte, Universidade de Brasília  
(UnB), Brasil.

## Editores Científicos

1. Dr. Carlos Henrique Vasconcellos Ribeiro,  
Universidade Santa Úrsula, Brasil.
2. Dr. Leonardo José Mataruna dos Santos, American  
University in the Emirates - COBA / Assistant  
Professor / DUBAI, EAU, Emirados Árabes Unidos.
3. Dr. Marcelo Silva Marinho, Centro Universitário  
ICESP, Brasília – DF, Brasil.
4. Dr. Rodrigo Chaves, Universidade Santa Úrsula -  
USU Universidade Estácio de Sá - UNESA, Brasil.

5. DRn. ALIMANDRO LUIZ CARLOS JUNIOR  
ALIMANDRO, GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL,  
Brasil.
6. Sr. Rudney Uezu, Centro Universitário Sant'Anna,  
Brasil.
7. Dr. Ciro Brito, Federal University of Juiz de Fora,  
Brasil.
8. Dr. Ricardo Fabris Paulin, Universidade Paulista -  
UNIP e Centro Universitário ICESP, Brasília – DF,  
Brasil.
9. Dra. Jaqueline Lepsch, Universidade Santa Úrsula,  
Brasil.
10. Dr. Roberto Nóbrega, Universidade Paulista - UNIP,  
Brasil.
11. Dr. Guilherme Araújo Lacerda, Universidade  
Estadual de Montes Claros Faculdade de Saúde  
Ibituruna Faculdades Integradas do Norte de  
Minas, Brasil.
12. Dr. Alexandre Gonçalves, Instituto Master de  
Ensino Presidente Antônio Carlos IMEPAC Araguari,  
Brasil.
13. Dr. Sergio Rodrigues Moreira, Universidade Federal  
do Vale do São Francisco - Univasf, Brasil.
14. Dr. André Guimarães, Universidade Estadual de  
Montes Claros UNIMONTES, Montes Claros - MG,  
Brasil.
15. Dr. André Bonadiaz Gadelha, Instituto Mauá de  
Pesquisa e Educação, Brasil.
16. Dr. Fernando Borges Pereira, Universidade Paulista  
- UNIP, Brasil.
17. Dra. Tailce Leite, Universidade Paulista - UNIP,  
Brasil.
18. Dr. Ferdinando Oliveira Carvalho, Universidade  
Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, Brasil.
19. Dra. Nanci Maria de França, Universidade Católica  
de Brasília - UCB, Brasil.
20. Dr. Bibiano Madrid, Centro Universitário Luterano  
de Palmas (CEULP/ULBRA), Brasil.
21. Dr. Marcelo Silveira de Alcântara, Centro  
Universitário ICESP, Brasília – DF, Brasil.

## Foco e Escopo

A **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde (RBPeCS)** aceita manuscritos redigidos em português, espanhol ou inglês, e prioriza artigos originais, todavia, não refuta estudos de revisão em todas as áreas da saúde. Foi inaugurada em 2014 com periodicidade semestral.

A **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde (RBPeCS)** é uma revista em acesso aberto de caráter inter e multidisciplinar relacionado a saúde, aberta a contribuições da comunidade científica nacional e internacional.

A **RBPeCS** publica artigos originais com elevado mérito científico nas áreas de Saúde, Prevenção, Doença, Atividade Física e Política de Saúde,

# REVISTA BRASILEIRA DE PESQUISA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - RBPECS

preferencialmente artigos originais de interesse internacional, e não apenas os de relevância regional.

Nosso objetivo é disseminar a produção científica nas áreas de Saúde, Prevenção, Doença, Atividade Física e Política de Saúde por meio da publicação de resultados de pesquisas originais e outras formas de documentos que contribuam para o conhecimento científico e acadêmico, bem como que possam gerar informação e inovação para a comunidade em geral.

A missão da **RBPeCS** é disseminar a produção científica na área da Saúde, por meio da publicação de artigos científicos que contribuam para a disseminação do conhecimento, e que possam ser utilizados nos diversos aspectos da saúde, particularmente na prevenção e tratamento dos problemas relacionados direta ou indiretamente a saúde da pessoa humana.

## Processo de Avaliação pelos Pares

Todo o conteúdo publicado pela Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde passa por processo de revisão por especialistas (peer review). Cada artigo submetido para apreciação é encaminhado aos editores, que fazem uma revisão inicial quanto aos padrões mínimos de exigência e ao atendimento de todas as normas requeridas para envio dos originais. A seguir, remetem o artigo a dois revisores especialistas na área pertinente. O processo de análise dos manuscritos é feito pelo método duplo-cego. Após receber ambos os pareceres, o Conselho Editorial os avalia e decide pela aceitação do artigo sem modificações, pela recusa ou pela devolução aos autores com as sugestões de modificações. Conforme a necessidade, um determinado artigo pode retornar várias vezes aos autores para esclarecimentos e, a qualquer momento, pode ter sua recusa determinada, mas cada versão é sempre analisada pelo Conselho Editorial, que detém o poder da decisão final.

## Política de Acesso Livre

Esta revista oferece acesso livre imediato ao seu conteúdo, seguindo o princípio de que disponibilizar gratuitamente o conhecimento científico ao público proporciona maior democratização mundial do conhecimento.

## Diretrizes para Autores

### Instruções para envio de material para publicação

Os manuscritos devem ser enviados por meio do sistema de submissão de manuscrito.

### Diretrizes para a Preparação do Original

#### Orientações gerais

O original – incluindo tabelas, ilustrações e referências bibliográficas – deve estar em conformidade com os “Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas”, publicado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas.

Devem ser transferido pelo menos dois arquivos durante o processo de submissão:

**1)** Arquivo do manuscrito: deve ser carregado no passo 2 em Transferência do Manuscrito.

**2)** Página de rosto: deve ser carregado no passo 4 em Transferência de Documentos Suplementares.

As seções usadas no manuscrito na RBPeCS são as seguintes: título em português, título em inglês, resumo em português, resumo em inglês, texto principal, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e notas de rodapé, em página separada), figuras (cada figura completa, com título e notas de rodapé em página separada) e legendas das figuras.

O texto deve ser digitado com fonte arial, tamanho 11 e margem de 2cm para todos os lados.

#### Página de rosto

A página de rosto deve conter todas as seguintes informações:

- título do artigo em inglês e em português;
- nome completo de cada um dos autores, endereço eletrônico de cada autor e filiação (instituição de vínculo);
- nome, endereço, telefone e endereço eletrônico do autor responsável pela correspondência;
- fonte financiadora ou fornecedora de equipamento e materiais, quando for o caso;
- declaração de conflito de interesse (escrever “nada a declarar” ou a revelação clara de quaisquer interesses econômicos ou de outra natureza que poderiam causar constrangimento se conhecidos depois da publicação do artigo);
- transferência de direitos autorais (escrever que todos os autores concordam com o fornecimento de todos os direitos autorais a Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde).

# REVISTA BRASILEIRA DE PESQUISA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - RBPECS

## Resumo

O resumo deve ter no máximo 250 palavras. O resumo das comunicações breves deve ter no máximo 150 palavras. Todas as informações que aparecem no resumo devem aparecer também no artigo. O resumo deve ser estruturado, conforme descrito a seguir:

### Veja exemplo de Resumo de artigo original

**Objetivo:** informar por que o estudo foi iniciado e quais foram as hipóteses iniciais, se houve alguma. Definir precisamente qual foi o objetivo principal e informar somente os objetivos secundários mais relevantes. **Métodos:** informar sobre o delineamento do estudo (definir, se pertinente, se o estudo é randomizado, cego, prospectivo, etc.), o contexto ou local (definir, se pertinente, o nível de atendimento, se primário, secundário ou terciário, clínica privada, institucional, etc.), os pacientes ou participantes (definir critérios de seleção, número de casos no início e fim do estudo, etc.), as intervenções (descrever as características essenciais, incluindo métodos e duração) e os critérios de mensuração do desfecho. **Resultados:** informar os principais dados, intervalos de confiança e significância estatística. **Conclusões:** apresentar apenas aquelas apoiadas pelos dados do estudo e que contemplemos objetivos, bem como sua aplicação prática, dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares.

### Veja exemplo de Resumo de artigo de revisão

**Objetivo:** informar por que a revisão da literatura foi feita, indicando se ela enfatiza algum fator em especial, como causa, prevenção, diagnóstico, tratamento ou prognóstico. **Fontes dos dados:** descrever as fontes da pesquisa, definindo as bases de dados e os anos pesquisados. Informar sucintamente os critérios de seleção de artigos e os métodos de extração e avaliação da qualidade das informações. **Síntese dos dados:** informar os principais resultados da pesquisa, sejam quantitativos ou qualitativos. **Conclusões:** apresentar as conclusões e suas aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

### Veja exemplo de Resumo de comunicação breve e carta ao editor

**Objetivo:** informar por que o caso merece ser publicado, apontando a lacuna na literatura. **Descrição:** apresentar sinteticamente as informações básicas do caso. **Comentários:** conclusões sobre a importância do relato para a comunidade científica e as perspectivas de aplicação prática das abordagens inovadoras.

## Palavras chave

Abaixo do resumo, fornecer de três a seis palavras-chave ou expressões-chave que auxiliarão a inclusão

adequada do resumo nos bancos de dados bibliográficos.

## Texto dos artigos de originais

O texto dos artigos originais deve conter as seguintes seções, cada uma com seu respectivo subtítulo:

**a) Introdução:** sucinta, citando apenas referências estritamente pertinentes para mostrar a importância do tema e justificar o trabalho. Ao final da introdução, os objetivos do estudo devem ser claramente descritos.

**b) Métodos:** descrever a população estudada, a amostra e os critérios de seleção; definir claramente as variáveis e detalhar a análise estatística; incluir referências padronizadas sobre os métodos estatísticos e informação de eventuais programas de computação. Procedimentos, produtos e equipamentos utilizados devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a reprodução do estudo. É obrigatória a inclusão de declaração de que todos os procedimentos tenham sido aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da instituição a que se vinculam os autores ou, na falta deste, por um outro comitê de ética em pesquisa indicado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde.

**c) Resultados:** devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica. As informações contidas em tabelas ou figuras não devem ser repetidas no texto. Usar gráficos em vez de tabelas com um número muito grande de dados.

**d) Discussão:** deve interpretar os resultados e compará-los com os dados já descritos na literatura, enfatizando os aspectos novos e importantes do estudo. Discutir as implicações dos achados e suas limitações, bem como a necessidade de pesquisas adicionais. As conclusões devem ser apresentadas no final da discussão, levando em consideração os objetivos do trabalho. Relacionar as conclusões aos objetivos iniciais do estudo, evitando assertivas não apoiadas pelos achados e dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares. Incluir recomendações, quando pertinentes.

## Texto dos artigos de revisão

O texto de artigos de revisão não obedece a um esquema rígido de seções. Sugere-se uma introdução breve, em que os autores explicam qual a importância da revisão para a área da saúde, à luz da literatura médica. Não é necessário descrever os métodos de seleção e extração dos dados, passando logo para a sua síntese, que, entretanto, deve apresentar todas as informações pertinentes em detalhe. A seção de conclusões deve correlacionar as idéias principais da revisão com as possíveis aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

# REVISTA BRASILEIRA DE PESQUISA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - RBPECS

## Agradecimentos

Devem ser breves e objetivos, somente a pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria. Integrantes da lista de agradecimento devem dar sua autorização por escrito para a divulgação de seus nomes, uma vez que os leitores podem supor seu endosso às conclusões do estudo.

## Referências bibliográficas

As referências bibliográficas devem ser numeradas e ordenadas segundo a ordem alfabética, no qual devem ser identificadas pelos algarismos arábicos respectivos sobrescritos. Para listar as referências, não utilize o recurso de notas de fim ou notas de rodapé do Word. As referências devem ser formatadas no estilo Vancouver, de acordo com os exemplos listados a seguir:

### 1. Artigo padrão

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med*. 2002;347:284-7.

### 2. Livro

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

### 3. Capítulo de livro

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editores. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

### 4. Teses e dissertações

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertação]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

### 5. Trabalho apresentado em congresso ou similar (publicado)

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. *Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland*. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

### 6. Artigo de revista eletrônica

Zimmerman RK, Wolfe RM, Fox DE, Fox JR, Nowalk MP, Troy JA et al. Vaccine criticism on the World Wide Web. *J Med Internet Res*. 2005;7(2):e17. <http://www.jmir.org/2005/2/e17/>. Acesso: 17/12/2005.

## 7. Materiais da Internet

### 7.1 Artigo publicado na Internet

Wantland DJ, Portillo CJ, Holzemer WL, Slaughter R, McGhee EM. The effectiveness of web-based vs. non-web-based interventions: a meta-analysis of behavioral change outcomes. *J Med Internet Res*. 2004;6(4):e40. <http://www.jmir.org/2004/4/e40>. Acesso: 29/11/2004.

### 7.2 Site

Cancer-Pain.org [site na Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01. <http://www.cancer-pain.org/>. Acesso: 9/07/2002.

### 7.3 Banco de dados na Internet

Who's certified [banco de dados na Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000. <http://www.abms.org/newsearch.asp>. Acesso: 8/03/2001.

## Tabelas

Cada tabela deve ser apresentada em folha separada, numerada na ordem de aparecimento no texto, e conter um título sucinto, porém explicativo. Todas as explicações devem ser apresentadas em notas de rodapé e não no título.

## Figuras (fotografias, desenhos, gráficos)

Todas as figuras devem ser numeradas na ordem de aparecimento no texto. Todas as explicações devem ser apresentadas nas legendas, inclusive acerca das abreviaturas utilizadas na tabela. Fotos não devem permitir a identificação do paciente.

As ilustrações são aceitas em cores para publicação no site. Imagens geradas em computador, como gráficos, devem ser anexadas sob a forma de arquivos nos formatos .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi, para possibilitar uma impressão nítida; na versão eletrônica, a resolução será ajustada para 72 dpi. Gráficos devem ser apresentados somente em duas dimensões, em qualquer circunstância.

## Legendas das figuras

Devem ser apresentadas em página própria, devidamente identificadas com os respectivos números.

## Declaração de Direito Autoral

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

# REVISTA BRASILEIRA DE PESQUISA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - RBPECS

a) Autores mantêm os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a [Licença Creative Commons Attribution](#) que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.

b) Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou

como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.

c) Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado (Veja [O Efeito do Acesso Livre](#)).

# REVISTA BRASILEIRA DE PESQUISA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - RBPECS

## Sumário V.8, Nº15 (2021)

| EDITORIAL                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                  |         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Autores                                                                                                                                                                                                                                                                            | Título                                                                                                                                                           | Páginas |
| Heitor Siqueira Ribeiro, Francini Porcher Andrade, Maycon Moura Reboredo                                                                                                                                                                                                           | Reabilitação e exercício físico na nefrologia brasileira: onde estamos e perspectivas futuras.                                                                   | 01-02   |
| ARTIGOS ORIGINAIS                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                  |         |
| Autores                                                                                                                                                                                                                                                                            | Título                                                                                                                                                           | Páginas |
| André Martins Galvão, Marek Henryque Ferreira Erket, Adrya Lúcia Peres, Danyelly Brunessa Gondim Martins, José Luiz de Lima Filho, Rosângela Ferreira Frade de Araújo                                                                                                              | Polimorfismo da glutathionina-S-transferase P1 e marcadores de estresse oxidativo em mulheres infectadas por papilomavírus humano.                               | 03-13   |
| Joanna d'Arc Lyra Batista, Amauri de Oliveira e Paulo Roberto Barbato                                                                                                                                                                                                              | Tendência de mortalidade por linfoma não Hodgkin em uma área de exposição ao glifosato: comparativo entre Chapecó-SC e o cenário nacional.                       | 14-19   |
| Nathasha da Silva Fontenele Carvalho, Ruan Henrique Silva de Souza, Samara Mesquita Lopes, Ruth Silva Lima da Costa                                                                                                                                                                | Ações desenvolvidas durante as consultas de crescimento e desenvolvimento infantil em um centro de saúde da Amazônia Ocidental.                                  | 20-25   |
| ARTIGOS DE REVISÃO                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                  |         |
| Autores                                                                                                                                                                                                                                                                            | Título                                                                                                                                                           | Páginas |
| Adrielli Tavares Cota, Gabriela Cunha Fialho Cantarelli Bastos, Ivone Félix de Sousa e Rogério José de Almeida                                                                                                                                                                     | A influência da fisioterapia em instituições de longa permanência: uma revisão integrativa.                                                                      | 26-31   |
| Alexia Polo Siqueira, Patrícia da Silva Antunes, Kamila T Deleprani, Beatriz Cetalle Schiavo, Mariela Soldá Ferrari, Mateus M dos Santos, Lilian S Figueiredo, Lucas Souza de Bem, Raquel Scanavachi Bonani, Marina M Carneiro, Angel C Gameiro e Pollyanna Francielli de Oliveira | Diabetes Mellitus: Perspectivas para diagnóstico e terapêutica a partir de edição genética por CRISPR-CAS9.                                                      | 32-40   |
| Karla Geovanna Ribeiro Brígido, Jandenilson Alves Brígido e Francisco José Maia Pinto                                                                                                                                                                                              | Proposta de fluxo de atendimento para crianças brasileiras diagnosticadas com maloclusão dentária nos serviços de odontologia: um estudo de revisão integrativa. | 41-47   |



## EDITORIAL

# REABILITAÇÃO E EXERCÍCIO FÍSICO NA NEFROLOGIA BRASILEIRA: ONDE ESTAMOS E PERSPECTIVAS FUTURAS

*Rehabilitation and exercise in Brazilian nephrology: where we are and future perspectives*

Heitor Siqueira Ribeiro<sup>1,2,3\*</sup>, Francini Porcher Andrade<sup>4</sup>, Maycon Moura Reboredo<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Educação Física, Universidade de Brasília (UnB), Brasília – DF, Brasil

<sup>2</sup> Centro de Investigação em Desporto, Saúde e Desenvolvimento Humano (CIDESD), Instituto Universitário da Maia (ISMAI), Porto, Portugal

<sup>3</sup> Centro Universitário ICESP, Brasília – DF, Brasil

<sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS, Brasil

<sup>5</sup> Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora – MG, Brasil

\*E-mail: heitorsiqueira95@gmail.com

Recebido: 21 abril 2021; Aceito: 22 abril 2021; Publicado: Maio 2021

## Resumo

A reabilitação em nefrologia tem se tornado uma promissora área da reabilitação, todavia, a sua cultura ainda não está totalmente estabelecida. Neste sentido, apresentamos neste editorial um pouco dos avanços que tivemos em 2020 para a implementação desta cultura, bem como as perspectivas para 2021.

**Palavras-chave:** Nefrologia; Reabilitação; Exercício; Atividade Física; Saúde Renal

## Abstract

Nephrology rehabilitation has become a promising rehabilitation area, however, its culture is not yet fully established. Therefore, we discuss in this editorial some of the advances we had in 2020 for the implementation of this culture, as well as the perspectives for 2021.

**Keywords:** Nephrology; Rehabilitation; Exercise; Physical Activity; Kidney Health

Apesar de 2020 ter sido um ano pandêmico, o que mudou a forma de como enxergamos o mundo, na área da reabilitação em nefrologia não foi diferente. Muitos pesquisadores tiveram que finalizar os seus projetos de pesquisa e buscar novas perspectivas, assim como os profissionais que atuam diretamente nas unidades de diálise que enfrentaram novos protocolos de segurança e, na maioria das vezes, uma interrupção em sua rotina clínica. No entanto, em meio a esse cenário obscuro, algumas coisas boas aconteceram e gostaríamos de discuti-las.

Em agosto de 2020, tivemos um incrível evento, o 1º Simpósio Brasileiro On-line de Doença Renal Crônica e Exercício, que foi organizado e conduzido por nós, Heitor e Francini<sup>1</sup>. Durante a pandemia, como alternativa ao “novo normal”, reunimos alguns dos mais importantes pesquisadores da área de reabilitação em nefrologia por dois dias para discutir os *hot-topics*: exercícios intradiáliticos, sarcopenia, função cardiopulmonar, nutrição, saúde musculoesquelética e intervenções inovadoras. Tivemos mais de 2 mil inscritos de todas as

regiões do Brasil e do mundo, incluindo pesquisadores, profissionais da saúde, estudantes, pacientes e seus familiares e curiosos sobre o tema.

Recentemente, no Centro Universitário ICESP, em Brasília, Distrito Federal, implantamos a primeira disciplina, até onde sabemos, de reabilitação em nefrologia nos cursos de fisioterapia e educação física no Brasil, e mais de 50 graduandos já foram envolvidos desde então. Durante as aulas, diversos pesquisadores e profissionais foram convidados a conversar com os graduandos sobre as suas experiências, proporcionando à área da reabilitação em nefrologia maior visibilidade e enfoque profissional<sup>2</sup>.

Depois das grandes conquistas do ano passado, entramos em 2021 com uma missão: criar uma rede brasileira para disseminar a cultura do exercício e da reabilitação em nefrologia. Agora, estamos organizando a criação do Grupo Brasileiro de Reabilitação em Nefrologia (GBREN), que em breve será apresentado à comunidade científica e profissional. Além disso, temos a satisfação de anunciar a 2ª edição do Simpósio Brasileiro

Online de Doença Renal Crônica e Exercício, que será nos dias 28 e 29 de julho. Esta edição incluirá a submissão de resumos e apresentações orais para promover aos graduandos e pós-graduandos, e não apenas aos pesquisadores doutores, a oportunidade de contribuir para a área. Os resumos aceitos também serão publicados em edição suplementar da Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde (RBPcCS).

Por fim, embora a nefrologia ainda não seja uma área de reabilitação bem estabelecida como outras,

estamos entusiasmados com as últimas conquistas e confiantes de que tais iniciativas estabelecerão a cultura do exercício e da reabilitação em nefrologia no Brasil. Compartilhamos o mesmo pensamento de Paul Bennett, um dos palestrantes do simpósio de 2020, que brilhantemente disse “nosso sonho é que toda unidade de diálise tenha profissionais do exercício e programas de exercícios intradialíticos como rotina clínica”. Por isso, convidamos você a viver este sonho conosco no Brasil!

**Conflito de interesse:** Heitor Ribeiro e Francini Andrade são os organizadores dos simpósios mencionados e todos os autores lideram o Grupo Brasileiro de Reabilitação em Nefrologia (GBREN).

### Referências

1. I Simpósio On-Line: Doença Renal Crônica e Exercício Físico. Disponível em: [https://www.youtube.com/channel/UCBpsDI7AxC\\_CoYsXcPAhSA](https://www.youtube.com/channel/UCBpsDI7AxC_CoYsXcPAhSA).
2. Mesa-redonda reabilitação em nefrologia. Disponível em: [https://www.youtube.com/watch?v=4ewnGw240CU&ab\\_channel=CentroUniversit%C3%A1rioICESP](https://www.youtube.com/watch?v=4ewnGw240CU&ab_channel=CentroUniversit%C3%A1rioICESP)

Original article

# Glutathione-S-transferase P1 polymorphism and oxidative stress markers in women infected by human papillomavirus

*Polimorfismo da glutathione-S-transferase P1 e marcadores de estresse oxidativo em mulheres infectadas por papilomavírus humano*

André Martins Galvão<sup>1</sup>, Marek Henryque Ferreira Erket<sup>1</sup>, Adrya Lúcia Peres<sup>1</sup>, Danyelly Brunheska Gondim Martins<sup>1</sup>, José Luiz de Lima Filho<sup>1</sup>, Rosângela Ferreira Frade de Araújo<sup>\*1</sup>

Laboratório de Imunologia Keizo Asami – LIKA, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil

\*E-mail: rfrade@prospecmol.org

Received: 18 June 2020; Accepted: 04 November 2020; Published: May 2021

## Abstract

**Objective:** to analyze the genetic polymorphism of GSTP1 located on chromosome 11q13.2 exon 5 (Ile105Val) and its association with oxidative stress markers and HPV infection. **Methods:** DNA were extracted from cervical scrapes for HPV identification by PCR, genotyping using HPV-Screening PapilloCheck®, and from whole blood for analysis of polymorphisms by RFLP-PCR. Oxidative stress was analyzed by measuring the serum levels of thiobarbituric acid reactive species, carbonyl groups, thiol groups, and catalase activity. **Results:** of all HPV-positive women, 75% had simple infections. Viral types 16 and 45 were the most frequent. A total of 56.25% of women had variant Ile105Val GSTP1 genotype (Ile/Val or Val/Val) with a heterozygous prevalence (43.75%). Among the HPV-positive women, the presence of the allelic variant led to a higher risk of developing cervical lesions (OR = 29.44). Women infected with HPV (especially the high-risk type) showed lower catalase activity and an increase in carbonyl groups. Considering the presence of variant genotypes Ile/Val and Val/Val, the infected women presented an increase in some oxidative stress markers, and HPV-negative women showed a decreased antioxidant capacity. **Conclusion:** these results indicate the potential influence of variant GSTP1 genotype on increased oxidative stress and susceptibility to cervical lesions in women infected with HPV.

**Keywords:** gstp1; reactive oxygen species; HPV; cervical injury.

## Resumo

**Objetivo:** analisar o polimorfismo genético de GSTP1 localizado no cromossomo 11.q13.2, exon 5 (Ile105Val) e associar a marcadores de estresse oxidativo e infecção por HPV. **Métodos:** o DNA foi extraído de raspados cervicais para identificação do HPV por PCR e genotipagem utilizando HPV-Screening PapilloCheck® e de sangue total para análise do polimorfismo por RFLP-PCR. O estresse oxidativo foi analisado através dos níveis séricos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, grupos carbonil, grupos tiol e atividade da catalase. **Resultados:** 75% das mulheres HPV positivas apresentaram infecções simples e os tipos virais 16 e 45 foram mais frequentes. 56,25% das mulheres apresentaram o genótipo variante Ile105Val GSTP1 (Ile/Val ou Val/Val) com prevalência de heterozigotos (43,75%). Entre as mulheres HPV positivas, a presença do variante alélico levou a um maior risco de desenvolver lesões cervicais (OR = 29,44). Mulheres infectadas com HPV (especialmente de alto risco) apresentaram menor atividade da catalase e aumento dos grupos carbonila. Considerando a presença dos genótipos variantes Ile/Val e Val/Val, as mulheres infectadas apresentaram aumento dos marcadores de estresse oxidativo e as mulheres HPV negativas apresentaram diminuição da capacidade antioxidante. **Conclusão:** estes achados sugerem uma possível influência do genótipo variante GSTP1 no aumento do estresse oxidativo e suscetibilidade a lesões cervicais em mulheres infectadas com HPV.

**Palavras-chave:** gstp1; espécies reativas de oxigênio; hpv; lesão cervical.

## Introduction

Human papillomavirus (HPV) is responsible for one of the most common sexually transmitted infections and activates oncogenes such as E6 and E7, capable of inducing the malignant transformation of infected cells.<sup>1, 2</sup> In clinical practice, HPVs are classified into high and low oncogenic risk. The low-risk HPV subtypes 6, 11, 40, 42, 43, 44, and 55 cause genital warts and dysplasia, while high-risk HPVs include subtypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, and 69, which cause cervical intraepithelial neoplasia.<sup>3</sup>

Cervical cancer is the third most common type of cancer among Brazilian women and the fourth leading cause of death from cancer among women worldwide. There is scientific evidence that the formation of tumors, commonly found in HPV-positive women, is the result of the overproduction of reactive oxygen species (ROS) in the host cell and/or tissue microenvironment.<sup>5, 6</sup> The accumulation of ROS can result in deleterious effects, including lipid peroxidation, protein oxidation, and DNA damage. Lipid peroxidation disrupts the normal structure and function of lipid bilayers, changing the permeability and fluidity of membranes, while protein changes caused by ROS include fragmentation, incorrect folding, protein-protein cross-links, and carbonyl production. On the other hand, oxidative stress can lead to different lesions in DNA, including the direct modification of nucleotide bases, apurinic/apyrimidinic training sites, single-strand breaks, and, much less frequently, double-strand breaks.<sup>7, 8</sup> However, antioxidants may contribute to the prevention of oxidative damage caused by HPV<sup>9</sup>.

Glutathione-S-transferases belong to a family of enzymes that prevent redox imbalance and hence DNA damage.<sup>10</sup> These enzymes are involved in the detoxification metabolism of carcinogens, and seven classes have been described: alpha, mu, pi, sigma, theta, omega, and zeta.<sup>11</sup> Some homozygous variant genotypes, seen mainly in the “mu” (e.g. GSTM1), “theta” (e.g. GSTT1), and “pi” (e.g. GSTP1) classes, are associated with reduced enzymatic activity and stability. This can lead to the exposure of cells to carcinogens, which can increase the risk of developing cancer.<sup>12, 13</sup>

Low levels of antioxidant enzymes, including glutathione-S-transferase, were found in

patients with cervical cancer<sup>14</sup>. The deficiency of certain antioxidants has been reported to influence the course of HPV infection. ROS leads to the activation of AP-1, an underlying factor in the expression of viral oncoproteins E6 and E7, favoring the proliferation of HPV<sup>15</sup>. The aim of this study was to analyze the genetic polymorphism of GSTP1 located on chromosome 11q13.2 exon 5 (Ile105Val substitution reduces enzyme activity<sup>13</sup>) and its association with oxidative stress markers and HPV infection.

## Materials and Methods

### Patient samples

A cross-sectional study with 84 women aged between 18 and 60 years (simple random sampling) was performed in public health centers in Olinda-Pernambuco, Brazil. The exclusion criteria were as follows: sterectomized patients; infection with HIV; pregnant women; history of transplant; and patients treated with immunomodulators. The inclusion criterion was women aged  $\geq 18$  years. The research was approved by the Ethics Committee on Human Research of the Health Science Center of the Federal University of Pernambuco - CEP / CCS / UFPE (registration no. 275/08).

### DNA extraction of samples

DNA extraction was performed using cervical scrape samples and 300  $\mu$ L of whole blood in EDTA using the Wizard® Genomic DNA Purification Kit from Promega according to the manufacturer's instructions.

### Identification of HPV DNA

DNA extracted from cervical samples was subjected to polymerase chain reaction (PCR) using the primers MY09/11 (5'-CGTCCMARRGGAAGTATC-3', 5'-GCMCAGGGCATAAAYAATGG-3') and GP5+/6+ (5'-TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC-3', 5'-GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC-3').<sup>16, 17</sup> The final volume of the reaction was 12.5  $\mu$ L (1  $\mu$ L of DNA extracted, 1  $\mu$ L of each primer (10 pmol), 3.25  $\mu$ L of ultrapure water, and 6.25  $\mu$ L of GoTaq Green Master Mix (Promega®)). The amplification conditions were as follows: 94°C for 3 min, 34 cycles of denaturation at 95°C for 1 min, annealing for 1 min, extension at 72°C for 1 min, and a final extension at 72°C for 10 min. The MY09/11 primers

were annealed at 55°C, whereas the GP5+/6+ primers were annealed at 45°C. The HPV16 plasmid pBR322 was used as the positive control, while ultrapure water was used as the negative control. The bands were visualized on agarose gel containing ethidium bromide under ultraviolet light.

$\beta$ -globin was used as a reporter gene to ensure the quality of DNA extraction by the amplification of a 268-pb region with specific primers (5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3' and 3'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-5'). The reaction was performed using a final volume of 12.5  $\mu$ L (1  $\mu$ L of extracted DNA, 1  $\mu$ L of each primer (10 pmol), 3.25  $\mu$ L of ultrapure water, and 6.25  $\mu$ L of GoTaq Green Master Mix (Promega®)). The PCR conditions were as follows: initial denaturation for 10 min at 94°C followed by 40 cycles of denaturation at 94°C for 1 min, annealing at 62°C for 1 min, and extension at 72°C for 1 min. The final extension step was performed at 72°C for 7 min. Ultrapure water was used as a negative control, while the DNA extracted from human blood was used as a positive control.

### **Genotyping HPV**

HPV-Screening PapilloCheck® (Greiner Bio One, Germany) was used to genotype HPV present in cervical samples by amplification of a region of 350 pb of the HPV E1 gene using 24 type-specific probes to identify HPV genotypes, 6 genotypes of low-risk oncogenic (06, 11, 40, 42, 43, 44/55), and 18 genotypes of high-risk HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82).

### **GSTP1 polymorphism**

PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was performed from DNA extracted from the whole blood samples in EDTA using the primers 5'-ACCCCGGGCTCTATGGGAA-3' and 5'-CACCAAAGATGAGGGCCCCT-3'. The final reaction volume was 12.5  $\mu$ L (1  $\mu$ L of extracted DNA, 1  $\mu$ L of each primer (10 pmol), 3.25  $\mu$ L of ultrapure water, and 6.25  $\mu$ L of GoTaq Green Master Mix (Promega®)). The PCR parameters used were as follows: initial denaturation at 94°C for 5 min followed by 30 cycles of denaturation at 94°C for 1 min, annealing at 59°C for 90 s, extension at 72°C for 90 s, and a final extension at 72°C for 7 min. The

PCR products were treated with a fast digest restriction enzyme (Alw26I; Thermo Fisher Scientific) for 5 min at 37°C. The bands were visualized on a 1% agarose gel containing ethidium bromide under ultraviolet light<sup>18</sup>. 329 and 113-bp bands corresponding to the wild genotype (Ile/Ile), a 216-pb band, and another band corresponding to thick bands (107 and 113 bp) for the homozygous variant genotype (Val/Val). All bands were visualized in the heterozygous variant genotype (Ile/Val). The 107- and 113-bp bands was confirmed by 10% polyacrylamide gel using eight samples (one wild-type genotype, three heterozygous variants, and four homozygote variants).

### **Cytopathologic analysis**

Immediately after collection, cervical samples were transported and stored in absolute ethanol. All samples were processed using the conventional methodology for cytopathological analysis.<sup>19</sup> The nomenclature of the Bethesda system was used for the classification of samples: negative for squamous intraepithelial lesions and malignancies (NILM), atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US), low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), and high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL).<sup>20</sup> Any samples not adequate for analysis (e.g. broken blade, presence of blood and inflammatory exudates, thick areas, poor fixation, contamination, and all parameters that could hamper the interpretation of the sample) were excluded. The final cytologic diagnoses were confirmed by consensus of two independent pathologists.

### **Oxidative stress markers**

Protein carbonyl groups were determined from the serum by spectrophotometry at 370 nm (reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine).<sup>21</sup> The thiobarbituric acid reactive species (TBARS) were measured as a marker of lipid peroxidation by spectrophotometry at 532 nm, as described by Draper and Hadley.<sup>22</sup> The total thiol content was measured at 412 nm, as described by Bulaj et al.<sup>23</sup> Catalase activity was determined by the rate of decrease of absorbance of hydrogen peroxide at 240 nm, as described by Aebi.<sup>24</sup>

## Statistical analysis

Data are expressed as the mean  $\pm$  standard deviation (SD). Normality analysis was performed using the Kolmogorov–Smirnov test. The Chi-square test, Mann-Whitney test, and Kruskal-Wallis test with Dunn's post-test were used for comparison between groups. All analyses were performed using GraphPad PRISM® version 4.03.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

### Patient profiles

The average age of the 84 women included in the study was 35.5 years. The distribution of the frequency of variants (Ile105Val) of the heterozygous genotype of GSTP1 (Ile/Val) was

46.43% (39/84), the wild genotype (Ile/Ile) was 42.86% (36/84), and the homozygous genotype (Val/Val) was 10.71% (9/84). HPV infection was found in 38% (32/84) of the samples. The distribution of the frequency of the variant genotype (heterozygous and homozygous) among HPV-positive women was 56.25% and among HPV-negative women was 57.69%. The presence of cytological lesions in HPV positive women was 18.75% (6/32) and among them, 31.25% (10/32) were smokers. In the cytopathological analysis, we found a higher frequency of normal results (92.85%, 78/84). However, between injuries, LSIL was the most common (Table 1). In total, 75% (24/32) of women presented simple infection and 25% (8/32) multiple infections. High-risk HPV was detected in 75% (24/32) of the infected samples (Table 2).

**Table 1.** Characteristics of the 84 women enrolled in the study

| Genotype                                  | HPV +    |         | HPV -    |         |
|-------------------------------------------|----------|---------|----------|---------|
|                                           | <i>n</i> | (%)     | <i>n</i> | (%)     |
| Heterozygous allelic variant (Ile/Val)    | 14       | (43.75) | 25       | (48.07) |
| Homozygous allelic variant (Val/Val)      | 4        | (12.5)  | 5        | (9.61)  |
| Allelic variant total (Ile/Val + Val/Val) | 18       | (56.25) | 30       | (57.69) |
| Wild (Ile/Ile)                            | 14       | (43.75) | 22       | (42.31) |
| Total                                     | 32       | (100)   | 52       | (100)   |
| <b>Cytological analysis</b>               |          |         |          |         |
| HSIL                                      | 2        | (6.25)  | -        | -       |
| LSIL                                      | 4        | (12.5)  | -        | -       |
| Normal                                    | 26       | (81.25) | 52       | (100)   |
| Total                                     | 32       | (100)   | 52       | (100)   |
| <b>Age</b>                                |          |         |          |         |
| 40-49 years                               | 5        | (15.62) | 17       | (32.69) |
| <39 or >50 years                          | 27       | (84.37) | 35       | (67.31) |
| Total                                     | 32       | (100)   | 52       | (100)   |
| <b>Smoking</b>                            |          |         |          |         |
| Smoking                                   | 10       | (31.25) | 9        | (17.03) |
| Non-smokers                               | 22       | (68.75) | 43       | (82.69) |
| Total                                     | 32       | (100)   | 52       | (100)   |

**Table 2.** Distribution of the frequency of the HPV genotypes and the presence of multiple and single infections

| HPV genotypes              | <i>n</i> (%)                                  |
|----------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>Single infections</b>   |                                               |
| 42/70/82/56/35/43          | <i>n</i> for HPV type<br>1/1/1/1/1/1 (18.75%) |
| 53/73                      | 2/2 (12.5%)                                   |
| 11/6                       | 3/3 (18.75%)                                  |
| 16/45                      | 4/4 (25%)                                     |
| Total                      | 24 (75%)                                      |
| <b>Multiple infections</b> |                                               |
|                            | <i>n</i> for HPV types                        |

|                                                                 |                      |
|-----------------------------------------------------------------|----------------------|
| 16, 18/39, 56, 16/45, 56, 66/52, 59, 44, 55/16, 59, 58/6,<br>82 | 1/1/1/1/1/1 (18.75%) |
| 56, 66                                                          | 2 (6.25%)            |
| Total                                                           | 8 (25%)              |

### ***GSTP1 polymorphism and HPV infection***

No association was observed between the GSTP1 polymorphism and susceptibility to HPV infection. When the variant genotype was associated with smoking, the risk of HPV infection was 2.5 times greater, although this finding was not statistically significant (Table 3). However, HPV-

positive women who had the variant genotype (Ile/Val or Val/Val) showed a risk 29 times greater ( $P < 0.05$ ) to present cytological lesions (Table 3). In this analysis, the frequency of the Ile/Val genotype and Val/Val genotype were combined since the frequency of the Val/Val genotype was low in both infected women and the controls.

**Table 3.** Association between the GSTP1 genotype with HPV infection and cervical lesions

| <b>GSTP1 Genotypes</b>                    | <b>Clinical conditions</b>     |                               | <b>X<sup>2</sup></b> | <b>OR (95% CI)</b>    | <b>P</b> |
|-------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------|-----------------------|----------|
| <b>Genotype</b>                           | <b>HPV presence</b>            | <b>HPV absence</b>            |                      |                       |          |
| Variant (Ile/Val)                         | 14                             | 25                            | 0.26                 | 0.8<br>(0.31–1.99)    | 0.608    |
| Variant (Val/Val)                         | 4                              | 5                             | 0.02                 | 0.8<br>(0.06–11.00)   | 0.880    |
| Variant (Ile/Val, Val/Val)                | 18                             | 30                            | 0.02                 | 0.94<br>(0.39–2.29)   | 0.896    |
| Wild (Ile/Ile)                            | 14                             | 22                            |                      | Reference             |          |
| <b>Genotype and smoking</b>               |                                |                               |                      |                       |          |
| Variant (Ile/Val, Val/Val) and smoker     | 5                              | 4                             | 1.54                 | 2.5<br>(0.57–10.92)   | 0.214    |
| Variant (Ile/Val, Val/Val) and non-smoker | 13                             | 26                            |                      | Reference             |          |
| <b>Genotype of HPV-infected women</b>     | <b>Abnormal cytology</b>       | <b>Normal cytology</b>        |                      |                       |          |
| Variant (Ile/Val, Val/Val)                | 2                              | 0                             | 4431                 | 29.44<br>(1.20–720.5) | 0.035    |
| Wild (Ile/Ile)                            | 4                              | 26                            |                      | Reference             |          |
| <b>Genotype</b>                           | <b>High-risk HPV infection</b> | <b>Low-risk HPV infection</b> |                      |                       |          |
| Variant (Ile/Val)                         | 10                             | 4                             | 0.01                 | 0.6<br>(0.12–3.82)    | 1        |
| Variant (Val/Val)                         | 3                              | 1                             | 0.28                 | 0.8<br>(0.06–11.0)    | 0.59     |
| Variant (Ile/Val, Val/Val)                | 13                             | 5                             | 0.01                 | 0.7<br>(0.13–3.66)    | 1        |
| Variant (Ile/Ile)                         | 11                             | 3                             |                      | Reference             |          |
|                                           | <b>HPV presence</b>            | <b>HPV absence</b>            |                      |                       |          |
|                                           | 14                             | 25                            | 0.26                 | 0.8<br>(0.31–1.99)    | 0.608    |

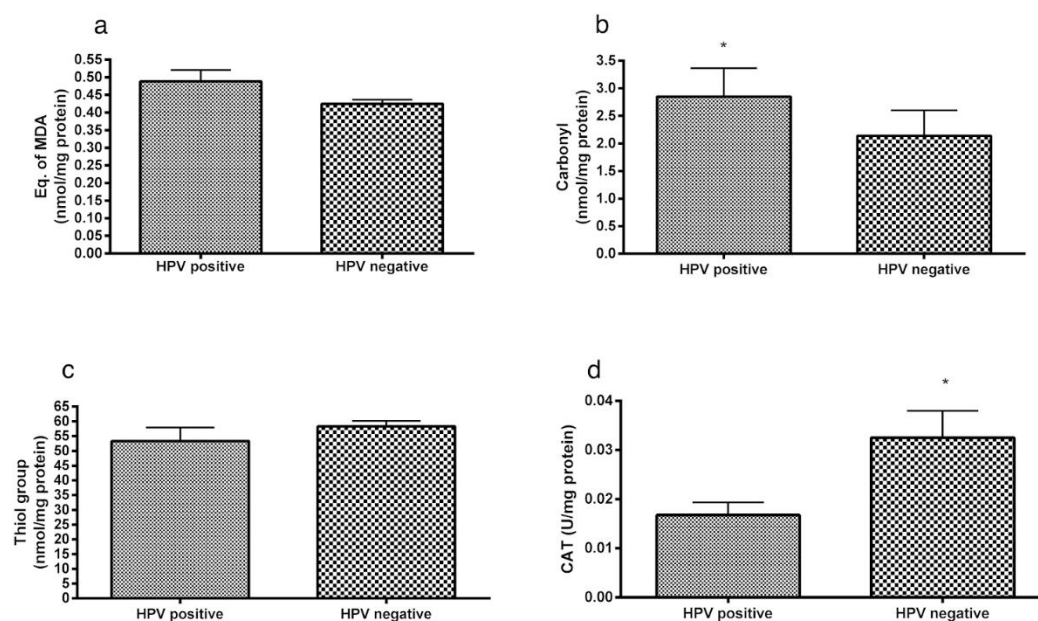
**Abbreviations:** HPV: human papillomavirus; OR: odds ratio; CI: confidence interval

### ***Oxidative stress markers***

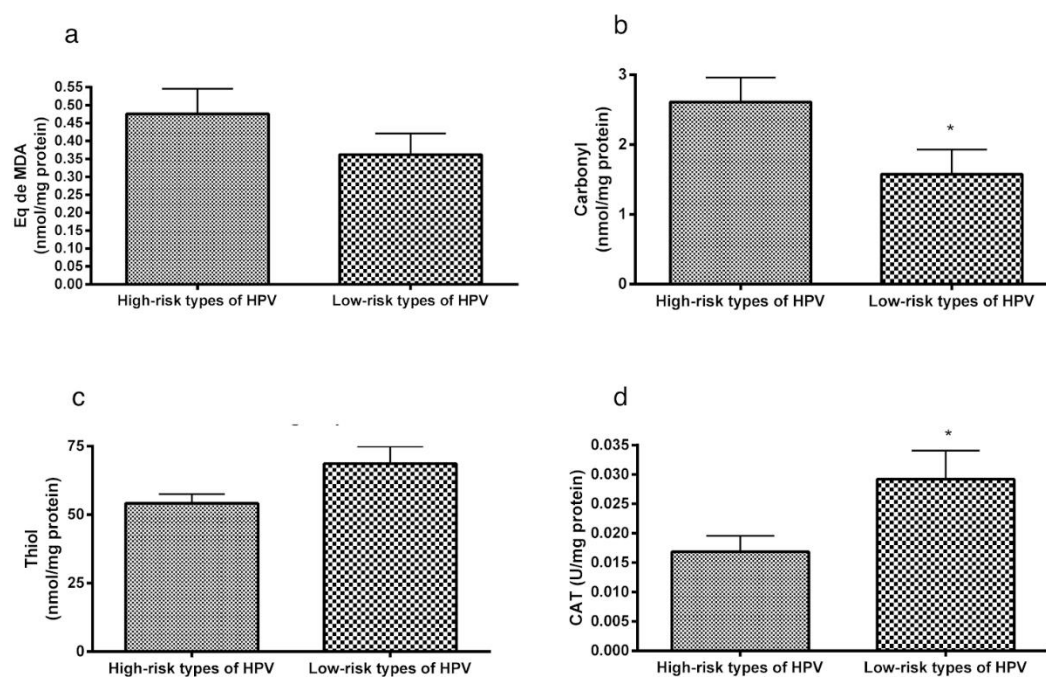
Statistically significant results were found for the increase in carbonyl groups and decrease in catalase activity in the presence of HPV (Figure 1b and d), especially in high-risk HPV infection (Figure

2b and d), increase in lipid peroxidation and carbonyl groups among HPV-infected women with variant GSTP1 genotype (Figure 3a and b, respectively), and decrease of thiol groups and catalase activity among uninfected women with variant GSTP1 genotype

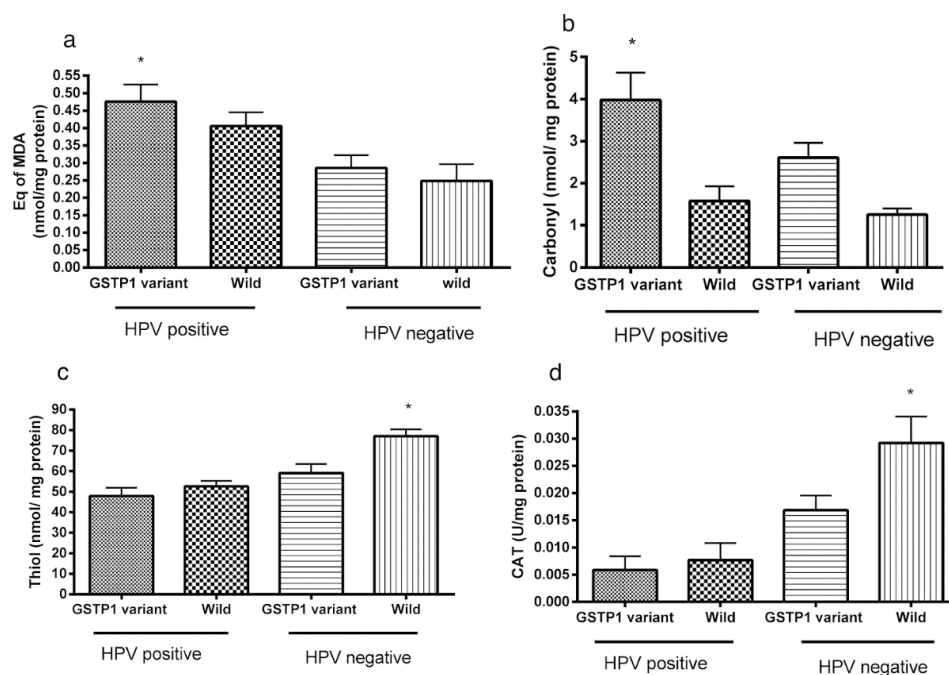
(Figure 3c and d, respectively).



**Figure 1.** Lipid peroxidation (MDA, malondialdehyde) (a), carbonyl group (b), thiol group (c), and enzymatic activity of catalase (CAT) (d) of women infected with HPV or not. \* $P < 0.05$ .



**Figure 2.** Lipid peroxidation (MDA, malondialdehyde) (a), carbonyl group (b), thiol group (c), and enzymatic activity of catalase (CAT) (d) of women infected with high- or low-risk oncogenic HPV. \* $P < 0.05$ .



**Figure 3.** Lipid peroxidation (MDA, malondialdehyde) (a), carbonyl group (b), thiol group (c), and enzymatic activity of catalase (CAT) (d) of women infected with high- or low-risk oncogenic HPV and different GSTP1 genotypes. \*P < 0.05.

## Discussion

De Aguiar *et al.*<sup>25</sup> analyzed the distribution of genotypes and variant allele frequencies of *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* and correlated these results with the risk of cancer in Porto Alegre, southern Brazil. For the *GSTP1* polymorphism, the genotype frequencies were 44% for the Ile/Ile genotype, 44% for the Ile/Val genotype, and 12% for the Val/Val genotype, similar to those found in our study. In their study, they found a significant association between the combination of the variant (*GSTP1*) or null genotypes (*GSTM1* and *GSTT1*), cervical lesions, and mammographic density in postmenopausal women. The frequency distribution of the *GSTP1* variant allele that we found (46.43% Ile/Val + 10.71% Val/Val) was also higher than that of the wild genotype (42.86%). Similar results were found in studies by Barcelos *et al.*<sup>26</sup> and Sohail *et al.*,<sup>27</sup> held in Brazil and India, where the population of heterozygous variant genotype was higher than that of other genotypes (49% (156/321) and 51% (22/43), respectively).

Studies relating to infections and *GSTP1* polymorphisms are very scarce. In analyses related to malaria, Sohail *et al.*<sup>27</sup> found a higher percentage of the heterozygous genotypes associated with infection by *P. vivax* (46.15%), while in patients

infected with *P. falciparum*, a higher percentage of the wild genotype (65.38%) was found. However, in both infections, the lowest percentage was found for the variant homozygous genotype (23.07% for infection by *P. vivax* and 11.53% for *P. falciparum*).

We did not find an association between the *GSTP1* genotypes and HPV infection. Millikan *et al.*<sup>28</sup> also found that the variant *GSTP1* genotype was not associated with an increased susceptibility to breast cancer in North Carolina (USA). Curran *et al.*<sup>29</sup> studied an Australian Caucasian population of 129 patients with breast cancer and found no major presence of the variant *GSTP1* genotype in patients with the disease. Previously, Helzlsouer *et al.*<sup>30</sup> had associated mutations and/or invalidity in the subtypes of the GST superfamily with an increased susceptibility to breast cancer in Maryland (USA), especially in women after menopause (OR = 2.50). Mitrunen *et al.*<sup>31</sup> also reported an increased risk of breast cancer in the presence of the *GSTP1* variant (Ile105Val) genotype (OR = 3.96) in Finland. Finally, this allelic variant was associated with an increased risk of glioma, principally in smokers.<sup>32</sup>

Polymorphisms or hypermethylation in *GSTP1* are frequent in cancer, and lead to decreased expression. Therefore, *GSTP1* is considered a tumor suppressor gene. However, in many types of cancer,

for example, colon and lung cancer, *GSTP1* is overexpressed and not methylated. These different findings lead to the need for specific interpretations of the degree of expression of this gene, as well as additional analyses of other molecules involved in metabolic pathways of GSTs. These enzymes have cytoprotective and regulatory functions, acting on the proliferation and death of cancer cells.<sup>33, 34</sup>

GSTs are enzyme systems that protect cells against the by-products of oxidative stress, and belong to one of three families of widely distributed proteins: mitochondrial, microsomal, and cytosolic. The cytosolic and mitochondrial GST families are comprised of soluble enzymes, while microsomal GSTs consist of proteins associated with membranes and have no structural similarity to the other two families.<sup>35</sup> The activities of cytosolic GSTs are 5 to 40 times larger than those of mitochondria. They represent the largest family of transferases, exert thiol transferase activity, and are capable of reducing trinitrate, acid dehydroascorbic, and acid monometilarsonic.<sup>35, 36</sup>

Three of the GST genes, *GSTP1*, *GSTM1*, and *GSTT1* (cytosolic GSTs), showed functional polymorphisms that are often present in the general population, and which may decrease or abolish enzyme activity. However, the combination of these polymorphisms with environmental factors may contribute to the increased risk of diseases.<sup>37, 38</sup> Accordingly, our results suggest that the presence of a variant genotype (Ile/Val or Val/Val) in women with HPV infection can increase the risk of developing cervical lesions. However, further analysis will be needed due to the low number of cervical lesions found; this is one of the limitations of this study.

The results obtained by Schellekens *et al.*<sup>39</sup> corroborate our own findings in terms of the distribution of infection by one HPV type and by two or more types. In the present study, 25% of the samples were found to have multiple infections. However, our findings differed in terms of the frequency of HPV genotypes, since we found a greater number of infections related to HPV 16 and 45 for simple infections and an increased number of infections related to HPV 56 and 66 for multiple infections (Table 2). In this respect, Schellekens *et al.*<sup>39</sup> found a higher percentage of HPV 16 and 18 related to single and multiple infections. However, it

must be taken into account that they tested cervical cancer specimens, in which high-risk oncogenic HPV is frequent. In our study, patient samples were taken during routine examinations, and only 6 showed cytological abnormalities (2 HSIL and 4 LSIL).

The introduction of carbonyl groups into the amino acid residues of proteins is a hallmark of oxidative modification.<sup>21</sup> We found an increase in carbonyl groups and a decrease in the antioxidant response (catalase activity) in women infected with HPV, mainly by high-risk oncogenic HPV. Catalase decomposes hydrogen peroxide into less-reactive gaseous oxygen and water molecules, and plays critical roles in defending against oxidative stress, which reflects an imbalance in the redox status.<sup>24</sup> Nirmala and Narendhirakannan<sup>40</sup> also found increased levels of carbonyl groups and a decrease in the catalase enzyme activity in the plasma of women with cervical cancer compared to those without cancer. Naidu *et al.*<sup>41</sup> observed an increase in the serum lipid peroxidation in patients with cervical cancer compared to healthy individuals. Borges *et al.*<sup>42</sup> conducted a study on Brazilian women living near the Amazon River and found a significant association between increased oxidative stress indicator (lipid peroxidation) and HPV infection.

The oncogenes E6 and E7 of HPV induce chronic inflammation through various mechanisms. This inflammation leads to a redox imbalance due to pro-inflammatory cytokines that activate protein kinase-mediated signaling pathways, leading to the formation of ROS. ROS has a detrimental effect on proteins, lipids, and nucleic acids, causing damage to cells.<sup>15, 43</sup> HPV 16 neoplastic progression has been associated with an increasingly oxidant environment.<sup>44</sup> HPV 18 E2, for example, can enhance mitochondrial biogenesis by upregulating the mitochondrial transcription factor A and interacting with the respiratory chain, thereby increasing reactive oxygen species (ROS). In a similar way, Song *et al.*<sup>45</sup> found that the overexpression of E6 in cervical carcinoma cells increased ROS levels and mitochondrial membrane polarization, leading to apoptosis, indicating that viral replication is stimulated and can promote carcinogenesis. Deshpande *et al.*<sup>46</sup> observed the effect of flax oil (FO) in a mouse ectopic model of cervical cancer and found that the expression of

oncoproteins (E6 and E7) was decreased, plasma antioxidant capacity was increased, and tumor growth was reduced.

In our study, we observed that, among HPV-infected women, those with the variant *GSTP1* genotype showed an increase in both of the oxidative stress indicators analyzed (lipid peroxidation and carbonyl groups). Among the uninfected women, those with the *GSTP1* variant genotype showed a decrease in the thiol groups and catalase activity. The amount of thiol groups, particularly in proteins, contributes to the plasma antioxidant capacity.<sup>23</sup> This finding suggests that the variant *GSTP1* genotype may contribute, together with HPV, to increased oxidative stress, which favors viral proliferation and increases the risk of cell damage. This polymorphism may also increase the probability of successful HPV infection in women with decreased antioxidant defenses. However, HPV infection or smoking alone can cause oxidative damage and may be confounding factors when polymorphisms in *GSTP1* are analyzed and associated with oxidative stress.

The amino acid change (Ile105Val) in both homozygous and heterozygous variants of *GSTP1* may result in decreased protein activity, a loss in

affinity to electrophilic compounds, and an increased risk of neoplasms<sup>47</sup>. However, our findings indicate that women infected by HPV with the variant *GSTP1* (Ile105Val) genotype are at greater risk of redox imbalance, and consequently of cytological lesions. Taken together, our results support other findings in the literature that highlight anti-inflammatory and antioxidant agents as promising therapeutic compounds against HPV infection.<sup>40, 43, 48</sup>

## Conclusion

The findings presented in this study demonstrated that protein oxidation increased and catalase activity decreased in women infected with HPV, particularly those with high-risk oncogenic HPV. We found a significant association between the presence of the *GSTP1* allelic variant (Ile105Val) and cervical injury among infected women. The presence of a variant genotype led to an increased expression of oxidative stress markers (lipid peroxidation and protein oxidation) among women with HPV infection and decreased antioxidant capacity (thiol groups and catalase enzyme activity) in women not infected by HPV.

**Conflicts of interest:** Nothing to declare.

**Funding:** This research was supported by National Council for Scientific and Technological Development (grant 475031/2010-5) and Research Foundation of the State of Pernambuco (grant #APQ-0425-5.01/10).

## Referências

1. Klug SJ, Hukelmann M, Blettner M. Knowledge about infection with human papillomavirus: A systematic review. *Prev Med.* 2008; 46(2): 87-98.
2. Oliveira A, Delgado C, Verdasca N, Pista A. Biomarkers of cervical carcinogenesis associated with genital human papillomavirus infection. *Acta Medica Port.* 2013; 26(2): 139-144.
3. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Coglianò V. WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. A review of human carcinogens-part B: biological agents. *Lancet Oncol.* 2009; 10(4): 321-322.
4. INCA (Instituto Nacional de Câncer), Ministério da Saúde, Governo do Brasil. <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-do-colo-do-utero>. Accessed Nov 2019.
5. Marullo R, Werner E, Zhang H, Chen GZ, Shin DM, Doetsch PW. HPV16 E6 and E7 proteins induce a chronic oxidative stress response via NOX2 that causes genomic instability and increased susceptibility to DNA damage in head and neck cancer cells. *Carcinogenesis.* 2015; 36(11): 1397-1406.
6. Cruz-Gregorio A, Manzo-Merino J, Lizano M. Cellular redox, cancer and human papillomavirus. *Virus Res.* 2018; 246: 35-45.
7. Catalá, A. Lipid peroxidation modifies the picture of membranes from the “Fluid Mosaic Model” to the “Lipid Whisker Model”. *Biochimie.* 2012; 94(1): 101-109. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.09.025>
8. Smith JA, Park S, Krause JS, Banik, NL. Oxidative stress, DNA damage, and the telomeric complex as therapeutic targets in acute neurodegeneration. *Neurochem Int.* 2013;

- 62(5): 764-775.
9. Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MN. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *J Control Release*. 2006; 113(3): 189-207.
  10. Mannervik B. The isoenzymes of glutathione transferase. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*. 1985; 57: 357-417.
  11. Hayes JD, Pulford DJ. The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1995; 30(6): 445-520.
  12. Palapattu GS, Sutcliffe S, Bastian PJ, Platz EA, De Marzo AM, Isaacs WB, Nelson WG. Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights. *Carcinogenesis*. 2004; 26(7): 1170-1181.
  13. Watson MA, Stewart RK, Smith GB, Massey TE, Bell DA. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: Relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*. 1998; 19(2): 275-280.
  14. Manju V, Kalaivani Sailaja J, Nalini N. Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients: a case-control study. *Clin Biochem*. 2002; 35(8): 621-625.
  15. Georgescu SR, Mitran CI, Mitran MI, Caruntu C, Sarbu MI, Matei C, Nicolae I, Tocut SM, Popa MI, Tampa M. New Insights in the Pathogenesis of HPV Infection and the Associated Carcinogenic Processes: The Role of Chronic Inflammation and Oxidative Stress. *J Immunol Res*. 2018; 2018: 5315816.
  16. Manos MM, Ting Shin Y, Wright DK, Lewis AI, Broker TR, Wolinsky SM, Manos M, Ting YC. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cell*. 1989; 7: 209-214.
  17. de Roda Husman AM, Walboomers JMM, van den Brule AJC, Meijer CJLM, Snijders PJF. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *J Gen Virol*. 1995; 76(4): 1057-1062.
  18. Sobti RC, Kaur S, Kaur P, Singh J, Gupta I, Jain V, Nakahara A. Interaction of passive smoking with GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) genotypes in the risk of cervical cancer in India. *Cancer Genet Cytogen*. 2006; 16692: 117-123.
  19. Papanicolaou GN. A New Procedure for Staining Vaginal Smears. *Science*. 1942; 95(2469): 438-439.
  20. Solomon D, Nayar R. Sistema Bethesda para citopatologia cervicovaginal: definições, critérios e notas explicativas, 2nd ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2005.
  21. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1990; 186: 464-478.
  22. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1990; 186: 421-431.
  23. Bulaj G, Kortemme T, Goldenberg DP. Ionization-reactivity relationships for cysteine thiols in polypeptides. *Biochemistry*. 1998; 37(25): 8965-8972.
  24. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984; 105: 121-126.
  25. de Aguiar ES, Giacomazzi J, Schmidt AV, Bock H, Saraiva-Pereira ML, Schuler-Faccini L, Duarte Filho D, dos Santos PAC, Giugliani R, Caleffi M, Camey SA, Ashton-Prolla P. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms, breast cancer risk factors and mammographic density in women submitted to breast cancer screening. *Rev Bras Epidemiol*. 2012; 15(2): 246-255.
  26. Barcelos GRM, Grotto D, de Marco KC, Valentini J, Lengert AH, de Oliveira AAS, Garcia SC, Braga GUL, Engström KS, Cólus IMS, Broberg K, Barbosa Jr F. Polymorphisms in glutathione-related genes modify mercury concentrations and antioxidant status in subjects environmentally exposed to methylmercury. *Sci Total Environ*. 2013; 463-464: 319-321.
  27. Sohail M, Kumar R, Kaul A, Arif E, Kumar S, Adak T. Polymorphism in glutathione S-transferase P1 is associated with susceptibility to Plasmodium vivax malaria compared to P. falciparum and upregulates the GST level during malarial infection. *Free Radical Bio Med*. 2010; 49(11): 1746-1754.
  28. Millikan R, Pittman G, Tse CK, Savitz DA, Newman B, Bell D. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 and breast cancer. *Cancer Epidem Biomar*. 2000; 9(6): 567-573.
  29. Curran JE, Weinstein SR, Griffiths LR. Polymorphisms of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and breast cancer susceptibility. *Cancer Lett*. 2000;

- 153(1-2): 113-120.
30. Helzlsouer KJ, Selmin O, Huang HY, Strickland PT, Hoffman S, Alberg AJ, Watson M, Comstock GW, Bell D. Association between glutathione S-transferase M1, P1, and T1 genetic polymorphisms and development of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90(7): 512-518
  31. Mitrunen K, Kataja V, Eskelinen M, Kosma VM, Kang D, Benhamou S, Vainio H, Uusitupa M, Hirvonen A. Combined COMT and GST genotypes and hormone replacement therapy associated breast cancer risk. *Pharmacogenetics.* 2012; 12(1): 67-72.
  32. Qasim I, Pandith AA, Sanadhya D, Zahoor W, Iqbal MK, Amin I, Manzoor U, Bhat AR, Shah ZA. Significant influence of GSTP1 Gene Ile105Val polymorphic sequence variation for elevated risk in predisposition to malignant glioma. *Meta gene.* 2018; 16: 117-121.
  33. Gurioli G, Martignano F, Salvi S, Costantini M, Gunelli R, Casadio V. GSTP1 methylation in cancer: a liquid biopsy biomarker? *Clin Chem Lab Med.* 2018; 56(5): 702-717.
  34. Singh S. Cytoprotective and regulatory functions of glutathione S-transferases in cancer cell proliferation and cell death. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015; 75(1): 1-15.
  35. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacol Toxicol.* 2005; 45(1): 55-88.
  36. Peters WHM, Roelofs HMJ. Effect of long time storage on cytosolic glutathione S-transferase. *Biochem Mol Biol Int.* 1997; 41(5): 913-917.
  37. Nagle CM, Chenevix-Trench G, Spurdle AB, Webb PM. The role of glutathione-S-transferase polymorphisms in ovarian cancer survival. *European J Cancer.* 2007; 43(2): 283-290.
  38. Sivoňová M, Waczulíková I, Dobrota D, Matáková T, Hatok J, Račay P, Kliment J. Polymorphisms of glutathione-S-transferase M1, T1, P1 and the risk of prostate cancer: a case-control study. *J Exp Clin Canc Res.* 2009; 28:32.
  39. Schellekens MC, Dijkman A, Aziz MF, Siregar B, Cornain S, Kolkman-Uljee S, Peters LAW, Fleuren GJ. Prevalence of single and multiple HPV types in cervical carcinomas in Jakarta, Indonesia. *Gynecol Oncol.* 2004; 93(1): 49-53.
  40. Grace Nirmala J, Narendhirakannan RT. Detection and Genotyping of High-Risk HPV and Evaluation of Anti-Oxidant Status in Cervical Carcinoma Patients in Tamil Nadu State, India - a Case Control Study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011; 12(10): 2689-2695.
  41. Naidu MS, Suryakar AN, Swami SC, Katkam RV, Kumbar KM. Oxidative stress and antioxidant status in cervical cancer patients. *Indian J Clin Biochem.* 2007; 22(2): 140-144.
  42. Borges BES, Brito EB, Fuzii HT, Baltazar CS, Sá AB, Silva CIM, Santos GFS, Pinheiro MCN. Human papillomavirus infection and cervical cancer precursor lesions in women living by Amazon rivers: investigation of relations with markers of oxidative stress. *Einstein (São Paulo).* 2018; 16(3): 1-7.
  43. Williams VM, Filippova M, Soto U, Duerksen-Hughes PJ. HPV-DNA integration and carcinogenesis: putative roles for inflammation and oxidative stress. *Future Virol.* 2011; 1; 6(1): 45-57.
  44. De Marco F, Bucaj E, Foppoli C, Fiorini A, Blarzino C, Filipi K, Giorgi A, Schininà ME, Di Domenico F, Coccia R, Butterfield DA, Perluigi M. Oxidative Stress in HPV-Driven Viral Carcinogenesis: Redox Proteomics Analysis of HPV-16 Dysplastic and Neoplastic Tissues. *PLoS One.* 2012; 7(3): e34366.
  45. Song S, Gong S, Singh P, Lyu J, Bai Y. The interaction between mitochondria and oncoviruses. *BBA-Mol Basis Dis.* 2018; 1864(2): 481-487.
  46. Deshpande R, Raina P, Shinde K, Mansara P, Karandikar M, Kaul-Ghanekar R. Flax seed oil reduced tumor growth, modulated immune responses and decreased HPV E6 and E7 oncoprotein expression in a murine model of ectopic cervical cancer. *Prostag Oth Lipid.* 2019; M 143: 106332.
  47. Ansolin PL, Damin DC, Alexandre COP. Polimorfismos das isoformas M1, T1 e P1 da glutathione S-transferase e associação com os aspectos clínico-patológicos no carcinoma colorretal. *Rev Bras Colo-proctol.* 2010; 30(3): 281-288.
  48. Aedo-Aguilera V, Carrillo-Beltrán D, Calaf GM, Muñoz JP, Guerrero N, Osorio JC, Tapia JC, León O, Contreras HR, Aguayo F. Curcumin decreases epithelial-mesenchymal transition by a Pirin-dependent mechanism in cervical cancer cells. *Oncol Rep.* 2019; 42(5): 2139-2148. doi: 10.3892/or.2019.7288

Artigo original

# Tendência de mortalidade por linfoma não Hodgkin em uma área de exposição ao glifosato: comparativo entre Chapecó-SC e o cenário nacional

*Mortality trends by Non-Hodgkin Lymphoma in a glyphosate exposure area: comparison between Chapecó-SC and the national scenario*

Joanna d'Arc Lyra Batista<sup>1\*</sup>, Amauri de Oliveira<sup>1</sup> e Paulo Roberto Barbato<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó – Santa Catarina, Brasil

E-mail: joanna.batista@uffs.edu.br

Recebido: 24 junho 2020; Aceito: 4 novembro 2020; Publicado: Maio 2021

## Resumo

**Introdução:** o câncer é atualmente a segunda causa de morte mundial, sendo um dos grandes problemas de saúde pública. O linfoma não Hodgkin (LNH) está entre os tipos de câncer que mais afetam trabalhadores rurais, tendo diversos fatores relacionados ao desenvolvimento da doença, entre eles o contato com pesticidas e herbicidas. **Métodos:** estudo ecológico do tipo série temporal de mortalidade, sendo a população de estudo os óbitos de pessoas maiores de 20 anos notificados pelo sistema de mortalidade para o município de Chapecó e para o Brasil, entre os anos de 1980 a 2014. As informações foram retiradas do DATASUS. Foram utilizados os códigos 200 e 202 do CID-9 no período de 1980-1995, e C82 a C85 do CID-10 para 1996-2014. As análises de dados foram feitas nos programas Microsoft Office Excel e Stata. **Resultados:** as taxas anuais de mortalidade por LNH para indivíduos de 20 anos ou mais no Brasil, durante 1980 e 2014, variaram de 1,69 a 3,06 por 100.000 habitantes, enquanto em Chapecó as taxas variaram de zero a 9,67 por 100.000 habitantes no mesmo período. **Conclusão:** a tendência de aumento na incidência de óbito em Linfoma não Hodgkin é observada tanto em Chapecó quanto no Brasil, porém as taxas de Chapecó são bem maiores que a brasileira, indicando que nesta região há um conjunto de fatores que pode favorecer o agravamento.

**Palavras-chave:** linfoma não Hodgkin; mortalidade; epidemiologia.

## Abstract

**Introduction:** cancer is currently the second leading cause of death worldwide and one of the major public health problems. Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) is among the cancers that most affect rural workers, which could be associated with a number of factors related to the development of the disease, including contact with pesticides and herbicides. **Methods:** this is an ecological study of the temporal series of mortality of people over 20 years old. It has been analysed the number of deaths reported by the mortality system for the municipality of Chapecó and for Brazil, taking in account the period between 1980 and 2014. That information has been taken from DATASUS. There have been used the Codes 200 and 202 of ICD-9 in the period 1980-1995, and C82-C85 of ICD-10 for 1996-2014. Data analyses have been done by using Microsoft Office Excel and Stata. **Results:** annual mortality rates by NHL for individuals aged 20 years and over in Brazil during 1980 and 2014 ranged from 1.69 to 3.06 per 100,000 inhabitants, while in Chapecó rates ranged from zero to 9.67 per 100,000 inhabitants in the same period. **Conclusion:** the trend of increased incidence of death in non-Hodgkin's lymphoma is observed in both Chapecó and Brazil, but Chapecó rates are much higher than in Brazil, indicating that in this region there are a number of factors that may influence the development of the disease.

**Keywords:** non-Hodgkin lymphoma; mortality; epidemiology.

## Introdução

O câncer é atualmente a segunda causa de morte no mundo tornando-se um grande problema de saúde pública, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Aproximadamente 30% da ocorrência mundial de câncer poderiam ser evitados, como cânceres relacionados ao trabalho<sup>1</sup>.

O Instituto Nacional do Câncer estima 6.580 novos casos de linfoma não Hodgkin (LNH) em homens e 5.450 em mulheres para 2020, indicando diferenças na incidência de acordo com o sexo, estimando um risco de 6,31 casos novos a cada 100 mil homens e 5,07 a cada 100 mil mulheres<sup>2</sup>. Mesmo com discreta diferença na incidência, de acordo com levantamento realizado no Sistema de Mortalidade, o linfoma não Hodgkin aparece como a segunda causa de morte por neoplasia hematológica em ambos os sexos<sup>3</sup>.

O linfoma não Hodgkin está entre os três tipos de câncer mais frequentes, relacionados aos trabalhadores rurais, devido à exposição a pesticidas utilizados pelos agricultores<sup>1</sup>. Achados de um importante estudo internacional, intitulado Agricultural Health Study (AHS), sugerem que vários tipos de câncer, incluindo o linfoma não Hodgkin, podem estar ligados a uma variedade de pesticidas<sup>4</sup>. Em uma revisão sistemática<sup>5</sup>, 23 dos 27 estudos sobre linfoma associaram o tipo não Hodgkin (LNH) em agricultores. A maioria deles eram homens adultos, que trabalhavam como fazendeiros, aplicadores de pesticidas. Os estudos mostraram um risco aumentado, e muitos mostraram as associações com dose-resposta. Estudos de saúde agrícola também contam evidências epidemiológicas de risco aumentado de LNH por exposição a pesticidas e solventes com exposição crescente.

Em Chapecó a agricultura é baseada na produção de soja, trigo, milho, feijão e triticales<sup>6</sup>. Na região de Chapecó, os agrotóxicos mais utilizados na lavoura de milho são os herbicidas como o glifosato, principalmente em milho transgênico. Na plantação de soja são utilizados o glifosato e os fungicidas.

Ainda há pouco conhecimento sobre a incidência de câncer devido à exposição ocupacional no Brasil e muito ainda precisa ser estudado<sup>1</sup>. Em vista disso, o objetivo desse estudo foi realizar uma análise de tendência temporal da mortalidade por linfoma não Hodgkin em Chapecó-SC comparando com o cenário nacional.

## Materiais e Métodos

### Tipo de estudo

Trata-se de um estudo ecológico do tipo série temporal de mortalidade.

### Local do estudo

O estudo abrangeu, além de dados nacionais, dados do município de Chapecó localizado no oeste

catarinense, a 670 Km de Florianópolis, região sul do país, com uma população estimada de 209.553 habitantes para o ano de 2016. Segundo o Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD), o Índice de Desenvolvimento Humano em 2010 era 0,790, classificando o município na 67ª posição brasileira<sup>7</sup>.

### População do estudo

A população de estudo foi composta pelo conjunto de óbitos notificados no Sistema de Mortalidade (SIM). Devido ao fato de Chapecó ser referência regional em oncologia, foram considerados os óbitos apenas em residentes no município.

### Coleta de dados

Os dados são secundários e foram coletados no site do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS). Foram analisados todos os óbitos de indivíduos de ambos os sexos, com 20 anos ou mais, entre os anos de 1980 a 2016. Optou-se por trabalhar com a faixa etária a partir de 20 anos em razão de ser a faixa etária produtiva ou aposentada da população.

Os dados avaliados foram categorizados de acordo com o trabalho de Boccolini e colaboradores<sup>3</sup> no qual considerou a Classificação Internacional de Doenças (CID) 9 e 10, por conta do período analisado. Neste estudo, o LNH recebeu os códigos 200 e 202, segundo a CID-9 (de 1980 a 1995), e códigos C82 a C85, segundo a CID-10 (a partir de 1996). As taxas específicas foram calculadas a partir de 20 anos de idade para as faixas etárias, utilizando-se intervalos de 20 anos (20 a 39, 40 a 59, 60 a 79 e 80 anos ou mais).

### Análise dos dados

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva observando-se a mortalidade por LNH no período de estudo de acordo com a faixa etária. Foi realizada a padronização das taxas de mortalidade, pelo método direto, considerando a população brasileira de 2010, a fim de permitir a comparação de tendências.

A análise de tendência temporal foi realizada utilizando-se o procedimento de Prais-Winsten para regressão linear generalizada. O uso de modelo de regressão generalizadas se fez necessário uma vez que regressões lineares simples não devem ser utilizadas em séries temporais devido autocorrelações seriais, que ocorrem frequentemente em análises de dados populacionais<sup>8</sup>. A partir dessa análise, foi possível avaliar se as tendências da mortalidade por linfoma não Hodgkin apontaram para um decréscimo ou aumento, ou ainda permaneceram estáveis no período estudado. A opção pelo método deve-se pelo mesmo permitir a quantificação das tendências e consequentemente suas comparações<sup>8</sup>.

O processamento e análise dos dados foram realizados nos programas *Microsoft Office Excel* versão 2016 e *Stata* versão 12.0 (Stata-Corp LP, College Station,

TX).

### Considerações éticas

Como se trata de um estudo que utilizou bases de dados secundárias agregadas e de livre acesso *online*, sem a possibilidade de identificação de indivíduos, de acordo com a Resolução 466/12, o presente estudo não necessitou de avaliação quanto aos riscos a seres humanos.

### Resultados

No período analisado, houve 89.418 óbitos por Linfoma não Hodgkin em indivíduos com 20 anos ou mais no Brasil e 87 em Chapecó, com taxa média nacional de

2,35 óbitos por LNH por 100.000 habitantes; e 3,21 óbitos por LNH por 100.000 hab no município de Chapecó. Quando analisada a taxa média padronizada para o município de Chapecó, observa-se um aumento para 4,09 óbitos por LNH por 100.000 hab.

As taxas brutas anuais de mortalidade por LNH para indivíduos de 20 anos ou mais no Brasil durante 1980 e 2016 variaram de 1,69 a 3,06 por 100.000 hab, enquanto que em Chapecó as taxas variaram de zero a 9,67 por 100.000 hab no mesmo período. As taxas de mortalidade padronizadas no município de Chapecó variaram de zero a 11,26 por 100.000 hab. A tabela 1 apresenta os coeficientes, nacional e local, de mortalidade por LNH por 100.000 hab (bruto e padronizado).

**Tabela 1.** Coeficientes de mortalidade por linfoma não Hodgkin por 100.000 habitantes no Brasil e em Chapecó-SC, taxas brutas e padronizada, 1980-2016.

| Ano  | Brasil | Chapecó Taxa Bruta | Chapecó Taxa Padronizada* |
|------|--------|--------------------|---------------------------|
| 1980 | 1,76   | 2,52               | 1,89                      |
| 1981 | 1,69   | 2,39               | 1,80                      |
| 1982 | 1,74   | -                  | -                         |
| 1983 | 1,81   | 4,25               | 4,45                      |
| 1984 | 1,75   | -                  | -                         |
| 1985 | 1,76   | -                  | -                         |
| 1986 | 1,83   | 1,83               | 2,43                      |
| 1987 | 1,75   | -                  | -                         |
| 1988 | 1,85   | -                  | -                         |
| 1989 | 1,78   | 1,61               | 1,23                      |
| 1990 | 1,95   | -                  | -                         |
| 1991 | 1,97   | -                  | -                         |
| 1992 | 1,97   | 6,04               | 7,95                      |
| 1993 | 2,21   | 1,56               | 2,58                      |
| 1994 | 2,24   | -                  | -                         |
| 1995 | 2,37   | -                  | -                         |
| 1996 | 1,94   | 1,33               | 2,11                      |
| 1997 | 2,42   | 5,12               | 5,72                      |
| 1998 | 2,52   | 2,48               | 3,95                      |
| 1999 | 2,57   | 3,62               | 4,43                      |
| 2000 | 2,52   | 3,41               | 5,82                      |
| 2001 | 2,62   | 1,10               | 1,66                      |
| 2002 | 2,59   | 2,16               | 2,13                      |
| 2003 | 2,75   | 2,11               | 3,83                      |
| 2004 | 2,80   | 2,07               | 3,12                      |
| 2005 | 2,66   | 2,96               | 3,43                      |
| 2006 | 2,93   | 4,82               | 8,65                      |
| 2007 | 2,80   | 4,33               | 4,83                      |
| 2008 | 2,76   | 1,76               | 1,95                      |
| 2009 | 2,83   | 2,44               | 4,51                      |

|      |      |      |       |
|------|------|------|-------|
| 2010 | 2,79 | -    | -     |
| 2011 | 2,89 | 6,27 | 7,58  |
| 2012 | 3,06 | 2,32 | 2,76  |
| 2013 | 2,84 | 2,93 | 3,40  |
| 2014 | 2,37 | 2,13 | 2,89  |
| 2015 | 2,90 | 9,67 | 11,26 |
| 2016 | 2,98 | 3,39 | 4,02  |

\*Taxa padronizada pela população brasileira de 2010 – método direto

A tabela 2 apresenta a distribuição absoluta e segundo as faixas etárias utilizadas. proporcional dos óbitos por linfoma não Hodgkin,

**Tabela 2.** Número e proporção de óbitos por linfoma não Hodgkin para o Brasil e Chapecó, segundo faixas etárias, 1980-2016.

| Faixa etária | Chapecó   |               | Brasil        |               |
|--------------|-----------|---------------|---------------|---------------|
|              | n         | %             | n             | %             |
| 20-39 anos   | 11        | 12,64         | 12.580        | 14,07         |
| 40-59 anos   | 26        | 29,89         | 25.635        | 28,67         |
| 60-79 anos   | 35        | 40,23         | 40.088        | 44,83         |
| 80 anos ou + | 15        | 17,24         | 11.115        | 12,43         |
| <b>Total</b> | <b>87</b> | <b>100,00</b> | <b>89.418</b> | <b>100,00</b> |

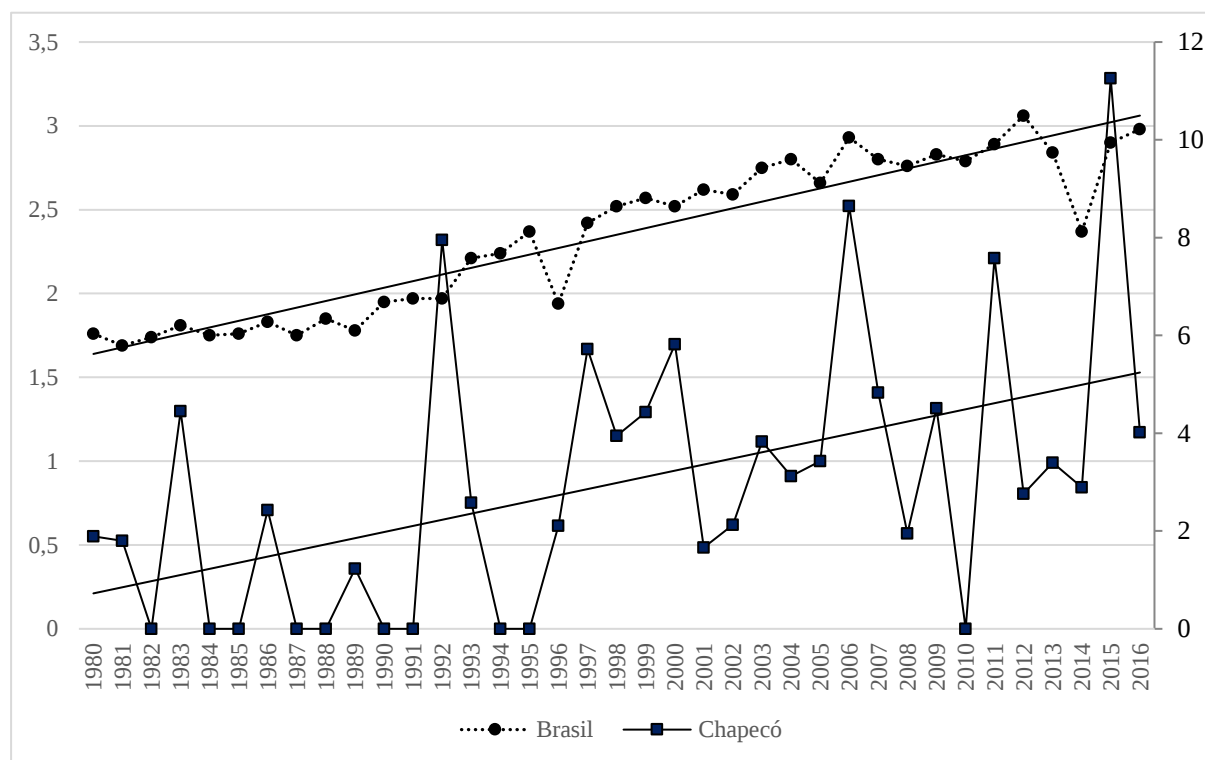
A regressão linear generalizada, pelo método de Prais-Winsten, demonstrou tendência de aumento dos coeficientes de mortalidade por LNH tanto no Brasil quanto em Chapecó ( $p < 0,001$  para ambas as tendências temporais), sendo a tendência de aumento em Chapecó

maior que no Brasil (2,98 e 2,36, respectivamente). A tabela 3 apresenta a tendência temporal para a mortalidade por linfoma não Hodgkin para o Brasil e Chapecó. A figura 1 apresenta o gráfico da distribuição dos coeficientes do Brasil e Chapecó (padronizado), com as respectivas linhas de tendência.

**Tabela 3.** Tendência temporal da mortalidade por linfoma não Hodgkin para o Brasil e Chapecó/SC, 1980-2016.

| IC 95%  |           |          |          |        |               |
|---------|-----------|----------|----------|--------|---------------|
| Local   | Tendência | Inferior | Superior | p      | Interpretação |
| Chapecó | 2,98      | 2,06     | 3,90     | <0,001 | Aumento       |
| Brasil  | 2,36      | 1,78     | 2,93     | <0,001 | Aumento       |

**Figura 1.** Coeficientes de mortalidade por linfoma não Hodgkin no Brasil e em Chapecó no período 1980-2016 e respectivas linhas de tendência.



## Discussão

Tanto o Brasil quanto o município de Chapecó apresentaram tendência de aumento de mortalidade por linfoma não Hodgkin, com Chapecó demonstrando uma tendência de aumento maior que o Brasil. O município de Chapecó apresentou taxas maiores do que as taxas brasileiras após a década de 1990, chegando a quase quatro vezes a taxa do Brasil no ano de 2015.

Uma limitação do estudo foi a utilização de dados secundários públicos, o que não permite uma associação causal com a ocupação dos indivíduos por não ter acesso a dados individuais. Outra limitação foi a impossibilidade de se calcular o incremento anual devido ao fato de alguns anos não terem registro de óbito por LNH em Chapecó.

Apesar de apresentar anos com valor nulo de óbito por LNH, devido à população pouco numerosa e o evento ser raro, Chapecó demonstra uma tendência de aumento nas taxas de óbito maior que o Brasil, com diferença estatisticamente significativa. Dos 10 anos sem registro de óbitos por LNH no município de Chapecó, nove se referem a anos anteriores a 1996, ano em que houve a substituição da CID-9 pela CID-10. A atualização da Classificação Internacional de Doenças em sua décima revisão pode ter resultado em uma maior sensibilidade no registro do óbito por LNH.

Considerando a distribuição proporcional dos óbitos estratificados por faixa etária, Brasil e Chapecó apresentaram percentuais semelhantes, com maiores proporções na faixa etária de 60 a 79 anos. Um estudo sobre a tendência de mortalidade por Linfoma não

Hodgkin no Brasil<sup>3</sup> já demonstrava um aumento na taxa de mortalidade padronizada em faixas etárias acima de 39 anos, sendo este aumento mais evidenciado em indivíduos acima de 60 anos ou mais.

A partir de 1990, apesar da mortalidade por câncer geral apresentar estabilidade ou, em alguns países desenvolvidos, declínio, alguns tipos de câncer como o linfoma não Hodgkin ainda não apresentam tal tendência<sup>3</sup>. Em Chapecó é observado que a partir da década de 1990 há um crescimento substancial, mesmo comparado ao cenário nacional. Este dado pode indicar que em Chapecó há algum fator que possa influenciar no aumento da mortalidade por LNH de forma mais acentuada do que acontece no Brasil.

O glifosato é o agente ativo dos principais herbicidas comercializados no Brasil e utilizado em larga escala nos setores agrícolas para controle de ervas daninhas, especialmente em plantações de milho e soja<sup>9</sup>.

Achados de um importante estudo internacional, intitulado Agricultural Health Study (AHS), sugerem que vários tipos de câncer, incluindo o linfoma não Hodgkin, podem estar ligados a uma variedade de pesticidas. Estudos mostram risco três vezes maior de linfoma não Hodgkin associados a uma exposição substancial a pesticidas e herbicidas<sup>4</sup>, sendo encontrada também associação do contato prolongado ao glifosato com o LNH<sup>10</sup>.

A agroindústria é o setor econômico predominante em Chapecó, sendo a agricultura baseada na produção de soja, trigo, milho, feijão e triticale. Dessa forma a exposição aos agrotóxicos nesta região pode ser

significativa, o que indica um olhar especial para este fator de risco e a necessidade de estudos futuros que analisem a exposição ocupacional desta população.

A tendência de aumento na incidência de óbito em Linfoma não Hodgkin é observada tanto em Chapecó quanto no Brasil, porém as taxas de Chapecó são bem maiores que a brasileira, indicando que nesta região há um conjunto de fatores que pode favorecer a ocorrência do agravo, sendo necessários estudos analíticos para evidenciar quais seriam estas associações.

**Conflito de interesse:** Os autores declararam não haver nenhum conflito de interesse.

**Financiamento:** Próprio.

### Referências

1. Santos ESG, Lopes CM, Koifman S. Cancer incidence and mortality in rural workers in the Brazilian Western Amazon. *Cad. Saúde Colet.* 2016; 24(1): 41-48.
2. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2019.
3. Boccolini PMM, Boccolini CS, Meyer A. Tendência de mortalidade por linfomas não Hodgkin no Brasil, 1980 a 2012. *Cad. Saúde Colet.* 2015; 23(2): 188-97.
4. Clapp RW, Jacobs MM, Loechler EL. Environmental and occupational causes of cancer: new evidence 2005-2007. *Rev Environ Health.* 2008; 23(1):1-37.
5. Bassil KL, Vakil C, Sanborn M, Cole DC, Kaur JS, Kerr KJ. Cancer health effects of pesticides: systematic review. *Can Fam Physician.* 2007; 53(10):1704-11.
6. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [Internet]. 2017 [citado em 2017 abr 21]. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/temas.php?codmun=420420&idtema=18>
7. Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. [Internet]. 2018 [citado em 2018 nov 14]. Disponível em: [www.br.undp.org/content/brazil/pt/home/idh0/rankings/idhm-municipios-2010.html](http://www.br.undp.org/content/brazil/pt/home/idh0/rankings/idhm-municipios-2010.html).
8. Antunes JLF, Cardoso MRA. Uso da análise de séries temporais em estudos epidemiológicos. *Epidemiol. Serv. Saúde.* 2015; 24(3):565-576.
9. Neiva TJC, Moraes ACR, Schwyzer R, Vituri CL, Rocha TRF, Fries DM, et al. In vitro effect of the herbicide glyphosate on human blood platelet aggregation and coagulation. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2010; 32(4): 291-94.
10. Carneiro FF, Augusto LGS, Rigotto RM, Friedrich K, Búrigo AC. Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015. P. 318.

Artigo original

# Ações desenvolvidas durante as consultas de crescimento e desenvolvimento infantil em um centro de saúde da Amazônia Ocidental

*Actions developed during children's growth and development consultations in a west Amazonian health center*

Nathasha da Silva Fontenele Carvalho<sup>1</sup>, Ruan Henrique Silva de Souza<sup>1</sup>, Samara Mesquita Lopes<sup>1</sup>, Ruth Silva Lima da Costa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Programa de Enfermagem do Centro Universitário Uninorte, Rio Branco – Acre, Brasil

E-mail: ruttilyma@gmail.com

Recebido: 24 junho 2020; Aceito: 4 novembro 2020; Publicado: Maio 2021.

## Resumo

**Objetivo:** demonstrar as ações realizadas durante as consultas de crescimento e desenvolvimento infantil em um centro de saúde da Amazônia Ocidental. **Métodos:** trata-se de um estudo transversal, de abordagem quantitativa, desenvolvido durante as consultas de crescimento e desenvolvimento infantil. **Resultados:** o estudo foi realizado com 20 crianças atendidas no período; destas, houve prevalência do sexo feminino 55% (n=11), com idade entre 0 a 2 meses 30% (n=6) e 6 a 12 meses 30% (n=6). A maioria 65% (n=18) não estavam em aleitamento materno exclusivo; no entanto, 55% (n=11) ainda mamavam. As cadernetas, em sua maioria (90,0%), apresentavam os registros dos dados antropométricos dos últimos 2 meses. Quanto a frequência das crianças às consultas, a maioria havia comparecido à unidade de 2 a 4 vezes e 8 a 10 vezes (30,0%), respectivamente, de acordo com a idade. Todas as mães relataram terem recebido orientações sobre o estado de saúde da criança, recomendariam o atendimento da unidade e voltariam a ser atendidas para as consultas de acompanhamento. **Conclusão:** o acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil, na unidade de saúde, está ocorrendo de acordo com os parâmetros recomendados nos protocolos definidos pelo Ministério da Saúde, no entanto, faz-se necessário que as ações ora desenvolvidas tenham continuidade, favorecendo um adequado acompanhamento da criança durante toda a infância.

**Palavras-chave:** crescimento e desenvolvimento; cuidado da criança; puericultura.

## Abstract

**Objective:** to demonstrate the actions taken during child growth and development consultations at a health center in the Western Amazon. **Methods:** this is a cross-sectional study, with a quantitative approach, developed during child growth and development consultations. **Results:** The study was conducted with 20 children attended in the period, of which there was a female prevalence of 55% (n = 11), aged between 0 to 2 months 30% (n = 6) and 6 to 12 months 30% (n = 6). Most 65% (n = 18) were not exclusively breastfed, however 55% (n = 11) were still breastfeeding. The books, in their majority (90.0%), presented the records of anthropometric data from the last 2 months. As for the frequency of children to consultations, most had attended the unit between 2 to 4 times and 8 to 10 times (30.0%), respectively, according to age. All mothers reported having received guidance on the child's condition, recommending care at the unit and returning to care. **Conclusion:** the monitoring of child growth and development in the health unit, is taking place according to the parameters recommended in the protocols defined by the Ministry of Health, however, it is necessary that the actions now developed have continuity, favoring an adequate monitoring of the child throughout childhood.

**Keywords:** growth and development; child care; childcare.

## Introdução

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as estimativas apontam que morrem anualmente, cerca de 6 milhões de crianças menores de cinco anos por complicações no período neonatal e de doenças comuns na infância, que poderiam ser evitadas se houvesse um melhor atendimento de saúde, voltado para elas. No entanto, apesar dos avanços obtidos frente as ações de saúde materno e infantil em todo o mundo, ainda existem lacunas entre a cobertura e a qualidade dos cuidados prestados a esse público-alvo.<sup>1,2</sup>

A vigilância do desenvolvimento infantil configura-se um importante instrumento de atenção à saúde da criança, através da implementação de ações voltadas à promoção do crescimento e desenvolvimento (C e D) de forma saudável, além da identificação precoce de desvios nesse processo. Tudo isso com o intuito de diminuir a incidência de doenças e aumentar as chances de a criança alcançar todo seu potencial de crescimento e desenvolvimento.<sup>3,4</sup>

Dados do Ministério da Saúde tem evidenciado que as intervenções realizadas nos primeiros anos de vida, durante o acompanhamento das crianças nas unidades de saúde, são essenciais para que elas possam crescer e se desenvolver de forma satisfatória, sob os aspectos biológicos, psicoemocionais e sociais.<sup>5</sup>

Frente a esse acompanhamento, a utilização correta da caderneta de saúde da criança (CSC), em todas as consultas, é uma das melhores estratégias para a identificação precoce de agravos, visto que ela possibilita ao profissional de saúde, visualizar qualquer alteração que porventura possa estar ocorrendo. Nesse sentido, ela caracteriza-se como um importante instrumento de acompanhamento longitudinal e de educação em saúde, capaz de auxiliar na atenção integral, o que pode repercutir, positivamente, na redução da morbimortalidade infantil.<sup>6,7</sup>

Destarte é importante ressaltar que o crescimento e desenvolvimento adequados são importantes indicadores de qualidade de vida e saúde da criança, pois exercem estreita relação com os aspectos socioeconômicos, ambientais e culturais da população. Mediante a isso, torna-se indispensável que, durante as consultas de acompanhamento, possa se conhecer o ambiente em que a criança está inserida, no intuito de medidas de enfrentamento, frente a questões que possam interferir na sua saúde e que precisam ser descontinuadas, bem como reafirmar condições ambientais favoráveis ao seu pleno desenvolvimento.<sup>8,9</sup>

Dessa forma, reafirma-se, dentre as características mais significativas das consultas de (C e D), está o olhar integral à saúde da criança, que pode ser realizada através da utilização dos instrumentos de avaliação contidos na caderneta. Esses instrumentos são ferramentas norteadoras para as mães, no sentido de melhor compreender os crescimentos dos seus filhos e

como estratégia de monitoramento pelos profissionais de saúde, devido à fácil aplicabilidade e baixo custo.<sup>10,11</sup>

Considerando que as ações desenvolvidas durante as consultas são um o eixo norteador das ações voltadas a esse público-alvo, o profissional pode identificar problemas e consequentemente implementar ações que possam contribuir para solucioná-los, melhorando assim as condições de saúde da criança. Dessa forma, o presente artigo tem por objetivo demonstrar as ações desenvolvidas durante as consultas de crescimento e desenvolvimento infantil em um centro de saúde da Amazônia Ocidental.

## Materiais e Métodos

Foi realizado um estudo transversal, de abordagem quantitativa, a partir de dados primários, referente à avaliação das consultas de crescimento e desenvolvimento infantil de uma unidade da Amazônia Ocidental.

Selecionou-se por conveniência crianças de 0 a 7 anos de idade, atendidas no programa crescimento e desenvolvimento da unidade de saúde, acompanhadas de suas mães e que procuraram atendimento no mês de março de 2020. Todas as mães convidadas aceitaram participar do estudo.

Para compor a amostra, foram adotados os seguintes critérios de inclusão: crianças em acompanhamento mensal no programa de crescimento e desenvolvimento infantil, cadastradas na unidade de saúde, com idade entre 0 a 7 anos, que compareceram à unidade no período da coleta de dados acompanhados de suas mães, que concordaram participar da pesquisa.

Foram excluídos os usuários com idade superior a 7 anos, os que não estavam em acompanhamento mensal frente às consultas de crescimento e desenvolvimento na unidade e que não estavam nas consultas acompanhados pelas mães.

Para a obtenção dos dados da pesquisa, foi utilizado um questionário, com perguntas fechadas, aplicado junto as mães, o qual abordava as seguintes questões: perfil das crianças acompanhadas e percepções das mães sobre o atendimento recebido durante as consultas. Nessa etapa, além da entrevista, os pesquisadores ainda realizaram uma análise da caderneta de saúde da criança, com o intuito de avaliar o seu preenchimento por parte dos profissionais de saúde.

Para a digitação, revisão e análise dos dados às variáveis categóricas, foi utilizado o programa *Statistical Package for the Science* (SPSS), na versão 21.0, onde foram realizadas as análises estatísticas. Estes foram apresentados em tabelas e gráficos.

Esta pesquisa foi fundamentada nas recomendações da Resolução de Nº 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde, que rege sobre a realização de pesquisa com seres humanos. Os participantes da pesquisa foram orientados sobre os objetivos da pesquisa e quanto ao termo de consentimento

livre e esclarecido (TCLE). Durante a pesquisa, foi respeitado o direito de livre escolha assegurando sua vontade de contribuir e permanecer, ou não, na pesquisa e autonomia de manifestação dos participantes, prometendo o máximo de benefícios e os menores danos e riscos.

Para fins éticos, o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, CAAE: 20676819.9.0000.8028, parecer sob nº 3.777.816 em 03 de dezembro de 2019.

## Resultados

O estudo foi realizado com 20 crianças atendidas no período; destas houve prevalência do sexo feminino 55% (n=11), com idade entre 0 a 2 meses 30% (n=6) e 6 a 12 meses 30% (n=6). A maioria delas 65% (n=18) não estavam em aleitamento materno exclusivo, no entanto, 55% (n=11) ainda mamavam (Tabela 1).

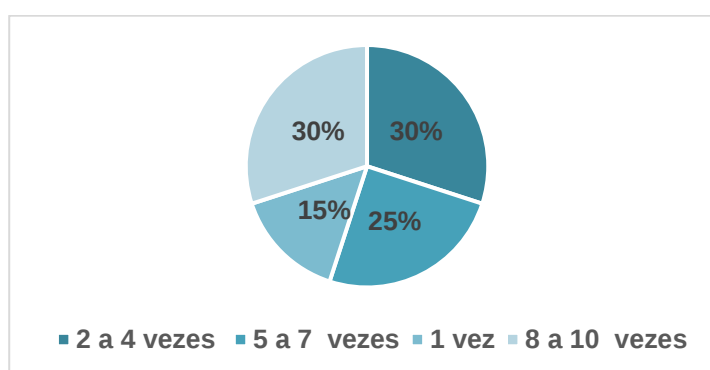
**Tabela 01.** Perfil das crianças que frequentam as consultas de Crescimento e Desenvolvimento Infantil de uma unidade de saúde da Amazônia Ocidental em 2020 (n=20).

| Variáveis                                           | Análise Descritiva |
|-----------------------------------------------------|--------------------|
| <b>Idade</b>                                        | <b>n (%)</b>       |
| 0 a 2 meses                                         | 6 (30)             |
| 2 a 6 meses                                         | 1 (5)              |
| 6 meses a 12 meses                                  | 6 (30)             |
| 12 meses                                            | 3 (15)             |
| 3 anos                                              | 1 (5)              |
| 4 anos                                              | 3 (15)             |
| <b>Sexo</b>                                         | <b>n (%)</b>       |
| Feminino                                            | 11 (55)            |
| Masculino                                           | 9 (45)             |
| <b>Encontra-se em Aleitamento Materno Exclusivo</b> | <b>n (%)</b>       |
| Sim                                                 | 7 (35)             |
| Não                                                 | 18 (65)            |
| <b>Mama no Peito</b>                                | <b>n (%)</b>       |
| Sim                                                 | 11 (55)            |
| Não                                                 | 9 (45)             |

Com relação à avaliação das cadernetas das crianças que frequentam a unidade para as consultas de C e D, observou-se que 60% (n= 12) possuíam registros de peso e altura nos últimos 2 meses e que 90 (n= 18) apresentavam no mínimo de 2 registros de IMC x Idade e PC contra Idade. A maioria dos registros 90%, (n= 18) foi realizada pelo profissional enfermeiro.

Quanto à frequência das crianças às consultas de C e D, a maioria compareceu de 2 a 4 vezes 30% (n= 6) e de 8 a 10 vezes 6 (30%), respectivamente. Esses dados têm relação com os resultados de idade descritos na tabela 01, uma vez que a maior parte delas encontravam-se na faixa etária entre 0 a 2 meses e 6 a 12 meses, o que justifica o resultado variável frente à frequência nas consultas.

**Figura 01.** Frequências das crianças nas consultas de crescimento e desenvolvimento na unidade de saúde da Amazônia Ocidental em 2020 (n= 20).



Concernente à avaliação das mães sobre as consultas, todas, 100% (n=20), relataram ter recebido orientações do profissional de saúde sobre o estado de saúde da criança, recomendariam o atendimento da unidade de saúde e voltariam a ser atendidas na unidade de saúde para as consultas de C e D.

## Discussão

Os principais achados destacaram que a maioria das crianças participantes do estudo eram do sexo feminino, com idade entre 0 a 2 meses e 6 a 12 meses e não se encontravam em aleitamento materno exclusivo, no entanto algumas delas ainda mamavam. Suas cadernetas de saúde, em sua maioria, apresentavam os registros dos dados antropométricos dos últimos 2 meses e a maioria delas foi atendida por profissional enfermeiro. Quanto à frequência às consultas, a maioria havia comparecido à unidade entre 2 a 4 vezes e 8 a 10 vezes respectivamente, de acordo com a idade. Todas as mães mostraram-se satisfeitas com o atendimento prestado às crianças, durante as consultas de acompanhamento do crescimento e desenvolvimento.

Com relação à variável sexo, os achados do presente estudo divergem do resultado de uma pesquisa sobre o preenchimento da caderneta na primeira infância, onde a maioria das crianças que frequentavam as consultas pertenciam ao sexo masculino.<sup>12</sup> Não foram encontrados dados na literatura que pudessem justificar o motivo da frequência das crianças às consultas ser maior em um determinado sexo em detrimento de outro, sendo assim, entende-se que seja um achado ocasional.

No que concerne à idade das crianças mais frequente às consultas, os resultados de um estudo realizado no nordeste brasileiro demonstraram que a mediana de idade das crianças, nas consultas de primeira vez, foi dois meses e meio, variando entre um mês e meio e quatro meses; e daquelas em consultas subsequentes, a mediana foi seis meses, variando entre quatro e nove meses,<sup>13</sup> corroborando com os achados desta pesquisa. Frente a isso, o Ministério da Saúde preconiza no mínimo oito consultas até o primeiro ano de vida, semestralmente até chegar aos dois anos, e anualmente ao passar dos três anos de idade.<sup>2</sup>

Quanto às práticas relacionadas ao aleitamento materno, um estudo realizado sobre a influência do aleitamento materno, no crescimento e desenvolvimento neuropsicomotor infantil, evidenciou que a maioria das crianças, especialmente aquelas com idade superior aos seis meses, estavam totalmente desmamadas,<sup>14</sup> o que vai de encontro com os resultados do presente estudo.

O leite materno é essencial para o crescimento e desenvolvimento infantil, pois possui um efeito protetor sobre a saúde das crianças, uma vez que é considerado fonte universal de nutrição para os bebês pequenos e para crianças de até 2 anos ou mais, além de contribuir para ingestão de energia e micronutrientes essenciais nos primeiros anos de vida.<sup>15</sup> Nessa perspectiva, o ato de

amamentar tem efeito desencadeador para um crescimento e desenvolvimento saudável, e que cuja prática deve ser estimulada durante as consultas de acompanhamento do C e D.<sup>16</sup>

No que concerne ao preenchimento adequado das cadernetas, dados de um estudo divergiu dos achados da presente pesquisa, uma vez que este, evidenciou um nível insatisfatório de preenchimento, pois apenas 25 % das cadernetas, estavam com as variáveis preenchidas, tendo a variável perímetro cefálico x idade o índice mais baixo, (21,9 %),<sup>17</sup> enquanto que no presente estudo, em sua maioria as cadernetas, apresentavam os registros dos dados antropométricos das crianças.

As anotações na caderneta são de fundamental importância, tendo em vista que, por meio delas, ocorre uma comunicação multiprofissional, proporcionando o correto acompanhamento do C e D da criança, possibilitando o reconhecimento precoce de problemas na infância, além de manter a família ciente do acompanhamento realizado e sobre quais parâmetros o crescimento e desenvolvimento dos seus filhos se encontra.<sup>18</sup>

A subutilização dos instrumentos de acompanhamento presentes na caderneta podem refletir baixa sensibilização dos profissionais de saúde para o registro dos dados, uma vez que o seu uso, com ênfase nas variáveis do C e D, é atualmente o eixo central do cuidado à saúde infantil.<sup>19</sup>

Durante as consultas, a avaliação periódica do ganho de peso permite acompanhar o progresso da criança, identificando aquelas de maior risco de morbimortalidade, sinalizando o alarme precoce para a desnutrição, a causa básica da instalação ou do agravamento da maior parte dos problemas de saúde infantil, sendo assim, torna-se imprescindível que seja realizado o adequado registro dos dados antropométricos na caderneta.<sup>20</sup>

Nesse sentido, o registro dessas informações constitui-se em um meio de comunicação utilizado pelos profissionais em suas ações, principalmente pelos enfermeiros, devido ao contato mais próximo deste com as famílias durante as consultas.<sup>21, 22</sup>

Notou-se, com a realização do presente estudo, que a frequência com que as crianças realizavam as consultas de puericultura estava de acordo com o que preconiza o Ministério da Saúde, o qual recomenda sete consultas de rotina no primeiro ano de vida, além de duas consultas no segundo ano, época em que estas apresentam maior risco e com necessidade de consultas periódicas.<sup>2</sup>

Sendo assim, seguir uma linha cronológica de consultas é de fundamental importância para o acompanhamento da criança, além do mais, elas são a principal forma prevenção de agravos nessa fase da vida, pois permitem ao profissional estreitar o vínculo com as famílias assistidas. O estabelecimento desse vínculo mostra-se como condição fundamental para que se obtenha o êxito e repercussão positiva sobre o cuidado

com a criança, uma vez que nessa fase elas podem apresentar graus de riscos de adoecer e morrer completamente distintos, segundo as condições e qualidade de vida de suas famílias.<sup>23,24</sup>

Frente à avaliação das mães sobre a qualidade das consultas de C e D realizadas na unidade de saúde, um estudo, onde foi analisada a satisfação das mães quanto às consultas, possibilitou identificar que a maioria delas, aprovaram a dinâmica das mesmas e também fizeram sugestões de melhoria, como o processo de marcação de consulta de seguimento.<sup>25</sup> Ter essa parceria e aprovação da família é de fundamental importância para o sucesso do acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil.

Constata-se a importância da implementação de ações que possam favorecer o comparecimento da criança às consultas, uma vez que estas constituem-se como um importante instrumento para acompanhamento das condições de saúde da população infantil. Para isso, é necessário ao profissional que atua no programa, possa conhecer e ter domínio dos procedimentos que integram essa assistência, a fim de desempenhar um cuidar sistematizado, ordenado, autêntico e capaz de envolver a família nesse processo.<sup>26</sup>

O presente estudo apresentou algumas limitações, uma vez que a coleta de dados ocorreu durante o período de pandemia de COVID- 19 no Brasil, o que certamente limitou o número de usuários na unidade de saúde pesquisada, nesse sentido, recomenda-se a realização de novas pesquisas na região, frente a essa temática, com uma maior população de estudo.

## Conclusão

Ao final deste estudo, conclui-se que as consultas de crescimento e desenvolvimento infantil na unidade de saúde pesquisada estão ocorrendo de acordo com os parâmetros recomendados pelo Ministério de Saúde, pois observou-se a frequência adequada das crianças, além de que o profissional realizou utilização dos índices antropométricos e curvas de crescimento contidas na caderneta de saúde da criança e que esses dados serviram como instrumento para a orientação das mães sobre o estado de saúde da criança, bem como o seu adequado preenchimento o que levou a satisfação das mães com o atendimento recebido.

Esses achados reafirmam a importância da realização correta e contínua das consultas de crescimento e desenvolvimento infantil, bem como a utilização da caderneta de saúde em todas as consultas.

**Conflito de interesse:** Os autores declararam não haver nenhum conflito de interesse.

**Financiamento:** Próprio.

## Referências

1. World Health Organization and Partnership for Maternal, Newborn and Child Health. Consultation on improving measurement of the quality of maternal, newborn and child care in health facilities. Genova: World Health Organization; 2013.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Saúde da criança: crescimento e desenvolvimento. Cadernos de Atenção Básica, nº 33. Brasília: Ministério da Saúde. 2012.
3. De Onis M. Preventing childhood overweight and obesity. *Jornal de Pediatria*. 2015;91(2):105-107.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Saúde da criança. Caderneta de saúde da criança. Brasília. 2011.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Manual instrutivo das ações de alimentação e nutrição na Rede Cegonha. Brasília. 2013.
6. Reichert APS, Almeida AB, Souza LC, Silva MEA, Collet N. Vigilância do crescimento infantil: conhecimento e práticas de enfermeiros da atenção primária à saúde. *Revista Rene*. [Internet]. 2012;12(1):114-126.
7. Vieira JRB, Vieira FLD. Análise crítica da caderneta de saúde da criança como instrumento de educação Fonoaudiológica. *Conhecimento Divers*. [Internet]. 2012;4 (7): 1-11.
8. Pacheco G. Evaluación del crecimiento de niños y niñas: material de apoyo para equipos de atención primaria de la salud [manual en Internet]. Salta: Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), Gobierno de la Provincia de Salta. 2012.
9. Mello DF, Henrique NCP, Pancieri L, Veríssimo MLÓR, Tonete VLP, Malone M. Segurança infantil na perspectiva de necessidades essenciais. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 2014; 22(4): 604-610.
10. Montarroyos ECL, Costa KRL, Fortes RC. Antropometria e sua importância na avaliação do estado nutricional de crianças escolares. *Comunicação em Ciências Saúde*. 2013;4(1): 21-26.
11. Munhoz Gaiva M, Coutinho Monteschio C, Souza Moreira M, Marques Salge A. Avaliação do crescimento e desenvolvimento infantil na consulta de enfermagem. *Avances en Enfermería*. 2018;36(1).
12. Freitas JLG. Preenchimento da Caderneta de Saúde da Criança na Primeira Infância. *Revista Brasileira em Promoção a Saúde*. 2019;32:4-5;
13. Carvalho EB, Sarainho SW. A consulta de

- enfermagem no acompanhamento do crescimento e desenvolvimento de crianças na estratégia saúde da família. *Revista de enfermagem UFPE on line*. 2016;10( 6):4804-4812.
14. Lima, AGA et al. A influência do aleitamento materno no crescimento e desenvolvimento neuropsicomotor infantil. 2017. Acesso em: 13 de outubro de 2020. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/7443>.
  15. De Oliveira Silva, EB et al. Benefícios do aleitamento materno no crescimento e desenvolvimento infantil: uma revisão sistemática. *HÍGIA-REVISTA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE E SOCIAIS APLICADAS DO OESTE BAIANO*, v. 1, n. 2, 2016.
  16. Azevedo, ARR et al. O manejo clínico da amamentação: saberes dos enfermeiros. *Revista de Enfermagem, Escola Anna Nery*, Rio de Janeiro, v.19, n.3, jul/sept, 2015. Acesso em: 13 de outubro de 2020. Disponível em: [http://revistaenfermagem.eean.edu.br/detalhe\\_artigo.asp?id=1319](http://revistaenfermagem.eean.edu.br/detalhe_artigo.asp?id=1319).
  17. Pereira MNA. A importância do preenchimento da caderneta de saúde da criança na vigilância a saúde infantil. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Enfermagem) - Escola de Enfermagem Aurora de Afonso Costa, Universidade Federal Fluminense. 2014: 51 f.
  18. Almeida A, Mendes L, Sad I, Ramos E, Fonseca V, Peixoto M. Uso de instrumento de acompanhamento do crescimento e desenvolvimento da criança no Brasil – Revisão sistemática de literatura. *Revista Paulista de Pediatria*. 2016;34(1):122-131.
  19. Carvalho M, Lira P, Romani S, Santos I, Veras A, Batista Filho M. Acompanhamento do crescimento em crianças menores de um ano: situação nos serviços de saúde em Pernambuco, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*. 2008;24(3):675-685.
  20. Oliveira VC, Cadette MMM. Anotações do enfermeiro no acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil. *Acta Paulista de Enfermagem*. 2009;22(3):301-306.
  21. Clendon J, Dignam D. Child health and development record book: tool for relationship building between nurse and mother. *Journal of Advanced Nursing*. 2010; 66(5):968-977.
  22. Reichert A, Rodrigues P, Albuquerque T, Collet N, Minayo M. Vínculo entre enfermeiros e mães de crianças menores de dois anos: percepção de enfermeiros. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2016;21(8):2375-2382.
  23. Saporoli ECL, Adami NP. Avaliação da qualidade da consulta de enfermagem à criança no Programa de Saúde da Família. *Acta Paulista de Enfermagem*. 2007;20 (1): 55-61.
  24. Silva JAL. Assistência de Enfermagem no Acompanhamento de Crescimento e Desenvolvimento de Crianças na Ceilândia. Monografia (Bacharelado em Enfermagem) Universidade de Brasília, Ceilândia-DF, 2013: 54 f.
  25. Souza A, De Oliveira Gouveia M, Almeida M, Torres C. Monitoring of child growth and development in primary care / Acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil na atenção básica. *Revista de Enfermagem da UFPI*. 2014;2(5):31

Artigo de revisão

# A influência da fisioterapia em instituições de longa permanência: uma revisão integrativa

*The influence of physiotherapy in long stay institutions: an integrative review*

Adrielli Tavares Cota<sup>1</sup> , Gabriela Cunha Fialho Cantarelli Bastos<sup>1</sup>, Ivone Félix de Sousa<sup>1</sup> e Rogério José de Almeida<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup> Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC-GO, Goiás – GO, Brasil  
E-mail: rogeriopucgo@gmail.com

Recebido: 9 julho 2020; Aceito: 05 agosto 2020; Publicado: Maio 2021

## Resumo

**Objetivo:** analisar a influência da fisioterapia praticada dentro de ILPI's na vida da pessoa idosa institucionalizada. **Fonte de dados:** trata-se de uma revisão integrativa da literatura conduzida por meio das bases de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e PubMed, no período de setembro a novembro de 2019. Os descritores utilizados foram: “fisioterapia”, “idoso” e “institucionalização”. Os critérios de inclusão foram: artigos que abordaram a fisioterapia em ILPIs; artigos publicados em português, inglês e espanhol; artigos publicados entre 2012 a 2019 e que tenham feito a pesquisa no Brasil. Os critérios de exclusão foram: artigos repetidos na busca; artigos que não abordaram a fisioterapia em ILPIs como tema principal; artigos de revisão de literatura, dissertações e teses. A amostra final foi composta por cinco artigos que avaliaram a fisioterapia nas instituições de longa permanência. **Conclusão:** os estudos abordaram, em sua maioria, a melhora dos pacientes submetidos à realização de fisioterapia. Foi possível evidenciar que, ao propor medidas para fortalecimento e exercícios em dupla tarefa, os pacientes apresentaram melhora nos escores, porém, a maioria dos idosos estudados faziam fisioterapia devido alguma disfunção, não sendo aplicada a fisioterapia desde a prevenção até a promoção de saúde.

**Palavras-chave:** fisioterapia; idoso; institucionalização.

## Abstract

**Objective:** to analyze the influence of physical therapy practiced within LTCFs in the life of the institutionalized elderly person **Data sources:** This is an integrative literature review conducted through the Virtual Health Library and PubMed databases, from September to November 2019. The descriptors used were: “physiotherapy”, “elderly” and “Institutionalization”. Inclusion criteria were: articles that addressed physical therapy in LTCFs; articles published in Portuguese, English and Spanish; articles published between 2012 and 2019 that have done research in Brazil. Exclusion criteria were: repeated articles in the search; articles that did not address physical therapy in LTCF as the main theme; literature review articles, dissertations and theses. The final sample consisted of five articles that evaluated physical therapy in long-term care facilities. **Conclusion:** most studies addressed the improvement of patients undergoing physical therapy. It was possible to show that, when proposing measures for strengthening and double-task exercises, patients showed improvement in scores, but most of the elderly studied had physiotherapy due to some dysfunction, not being applied to physiotherapy from prevention to health promotion.

**Keywords:** physiotherapy; elderly; institutionalization.

## Introdução

Envelhecer é um processo natural que envolve alterações neurobiológicas, estruturais, funcionais, químicas e psicossociais. Os fatores ambientais e pessoais também estão diretamente associados ao envelhecimento saudável do idoso.<sup>1</sup> A mudança constante da estrutura etária da população mundial tem sido tema bastante estudado, visto que um dos grandes desafios é proporcionar um envelhecimento ativo e com qualidade de vida. É estimado que, em 2050, 15% da população brasileira terá 70 anos ou mais.<sup>2</sup>

O aumento dessa população gera preocupação em muitos meios familiares. Muitos idosos se encontram com a saúde debilitada, problemas socioeconômicos, conflitos familiares, baixo salário e outros fatores que contribuem para as famílias encaminharem o idoso a casas de repouso, instituições geriátricas ou às entidades denominadas de Instituição de Longa Permanência para Idosos (ILPI's).<sup>3</sup>

As ILPI's são instituições governamentais ou não governamentais de caráter residencial, destinadas a serem domicílios coletivos de pessoas com idade igual ou superior a 60 anos.<sup>4</sup> A institucionalização do idoso tem se tornado cada vez mais comum, muitas famílias recorrem a essa medida por não terem tempo para cuidar do idoso ou, ainda, por não terem laços afetivos. Há ainda os idosos que não têm família e, por isso, procuram instituições para ter convívio social ou por não conseguir mais realizar as atividades de vida diária (AVDs) sem auxílio.<sup>5</sup>

Com o envelhecimento, surgem alterações inerentes ao comportamento e à capacidade física do idoso, como o desequilíbrio, diminuição da força muscular, redução da massa óssea e dificuldade para executar as AVDs.<sup>6</sup> O envelhecimento ativo e saudável da pessoa idosa residente em uma ILPI faz diferença quando a instituição oferece espaço amplo e adequado às necessidades especiais, o que deve incluir assistência fisioterápica.<sup>7</sup>

A fisioterapia, em um contexto de ILPI, visa preservar as funções motoras, tratar alterações e sintomas provenientes da patologia apresentada, prevenir deformidades e imobilidade, melhorar a funcionalidade do idoso evitando assim novas deformidades e perda da capacidade funcional.<sup>8</sup>

A fisioterapia tem papel importante na vida dos idosos, principalmente naqueles que possuem doenças degenerativas crônicas associadas ao próprio processo de envelhecimento. Para um envelhecimento mais ativo e saudável, a fisioterapia contribui restaurando e/ou mantendo o mais alto nível da função motora e independência física possível do paciente idoso. Na pessoa idosa, a prática deve ser continuada evitando que o paciente adquira novas disfunções, mantendo a capacidade funcional.<sup>9</sup>

Nesse sentido, o foco deste estudo se converge para pesquisas que investigaram a atuação da fisioterapia em um contexto de ILPI. Assim, teve por objetivo analisar a influência da fisioterapia praticada dentro de ILPIs na vida da pessoa idosa institucionalizada.

## Materiais e Métodos

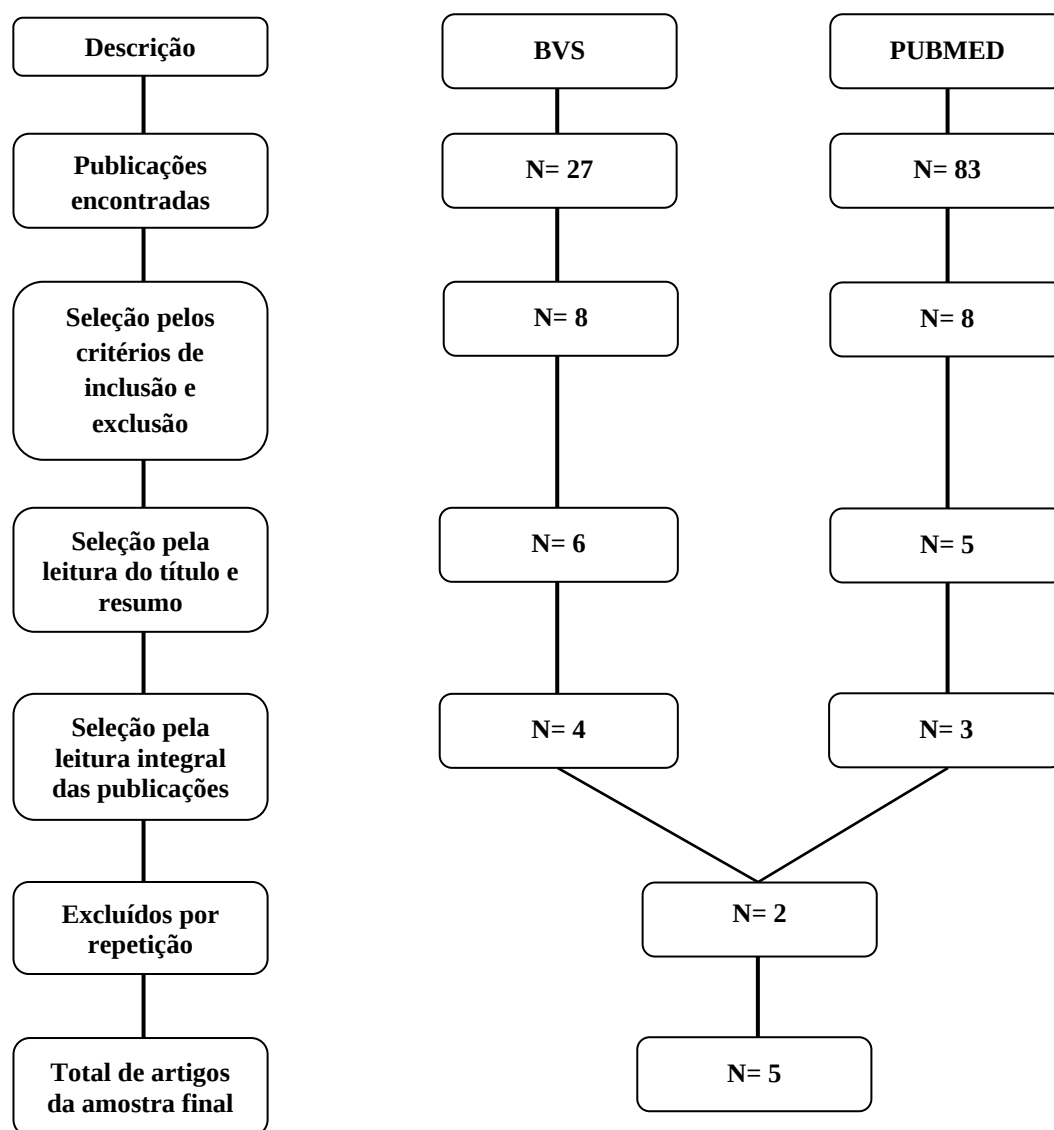
Trata-se de uma revisão integrativa da literatura. Este tipo de pesquisa se refere a uma abordagem metodológica ampla, que permite incluir estudos com diferentes desenhos metodológicos<sup>10</sup>.

A elaboração da pergunta norteadora é a primeira etapa pela qual serão definidos os estudos incluídos, as formas para a identificação e as informações coletadas dos estudos selecionados. A questão que norteia esta revisão é: Qual a influência da fisioterapia praticada dentro de ILPIs na vida da pessoa idosa institucionalizada?

A busca foi realizada por dois pesquisadores independentes e confrontados os resultados nas seguintes bases de dados: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e o PubMed da United States National Library of Medicine. Os descritores utilizados em língua portuguesa foram “fisioterapia”, “idoso” e “institucionalização”. Em língua inglesa foram “physiotherapy”, “elderly” and “institutionalization”. Em língua espanhola foram “fisioterapia”, “ancianos” e “institucionalización”.

Os critérios de inclusão foram: artigos que abordaram a fisioterapia em ILPIs; artigos publicados em português, inglês e espanhol; artigos publicados entre 2012 a 2019 e que tenham feito a pesquisa no Brasil. Os critérios de exclusão foram: artigos repetidos na busca; artigos que não abordaram a fisioterapia em ILPIs como tema principal; artigos de revisão de literatura, dissertações e teses.

Foi realizada a análise crítica dos estudos incluídos. Nesta fase foram organizadas as características dos estudos, avaliando os métodos e os resultados. Em seguida a interpretação dos estudos e uma síntese dos resultados encontrados, sendo feita a comparação dos dados selecionados. O fluxograma representado na Figura 1 apresenta todas as etapas para a seleção final dos artigos.



**Figura 1.** Fluxograma PRISMA com os resultados da seleção dos artigos.

## Resultados

Integraram a amostra dessa revisão cinco artigos que avaliaram idosos institucionalizados que realizaram fisioterapia. Todos os artigos foram publicados em português, nos anos de 2012, 2013, dois em 2016 e 2017.

Os estudos usaram instrumentos de avaliação como: a escala de equilíbrio de Berg (EEB), testes de Tinetti, Time Up and Go (TUG), alcance funcional anterior (TAF), questionário internacional de atividade física (IPAQ), teste de apoio unipodal, sentar e levantar, teste de dupla tarefa motora e cognitiva, mini exame do estado mental, teste de fluência verbal, escala de Barthel e índice de Pfeffer.

Apenas um artigo avaliou a fisioterapia cardiorrespiratória, sendo submetidos aos seguintes testes: avaliação de força muscular respiratória por meio do manovacuômetro e fluxo expiratório através do peak flow; após a avaliação, os idosos foram submetidos ao uso de

incentivador inspiratório (Respiron), técnicas manuais expansivas e incentivador inspiratório. A tabela 1 apresenta a síntese dos dados extraídos dos artigos.

**Tabela 1.** Apresentação da síntese dos dados extraídos dos artigos.

| <b>Autores</b>                            | <b>Título</b>                                                                                                                                      | <b>Periódico</b>                                  | <b>Tipo de estudo</b>                                                                                                                                                      |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (RIBAS et al., 2012) <sup>11</sup>        | Perfil de Idosos Atendidos pela Fisioterapia em Instituições de Longa Permanência em Pindamonhangaba – SP.                                         | UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde | Trata-se de um estudo descritivo. A amostra, de conveniência, foi constituída por trinta idosos atendidos pela Fisioterapia em duas ILPIs da cidade de Pindamonhangaba/SP. |
| (OLIVEIRA et al., 2013) <sup>12</sup>     | Efeitos da técnica expansiva e incentivador respiratório na força da musculatura respiratória em idosos institucionalizados.                       | Fisioterapia em Movimento                         | Estudo longitudinal, caso controle realizado em uma instituição da cidade de Curitiba (PR), com 16 indivíduos (70 a 80 anos) do sexo masculino.                            |
| (MENEZES et al., 2016) <sup>13</sup>      | Efetividade de uma intervenção fisioterapêutica cognitivo-motora em idosos institucionalizados com comprometimento cognitivo leve e demência leve. | Ciência & Saúde Coletiva                          | Trata-se de uma pesquisa quantitativa do tipo ensaio clínico com dois grupos independentes: grupo experimental (GE) e grupo controle (GC).                                 |
| (DIAS; SILVA; PIAZZA, 2016) <sup>14</sup> | Equilíbrio, mobilidade funcional e nível de atividade física de idosos institucionalizados que realizam e não realizam fisioterapia.               | ConScientiae Saúde                                | Estudo transversal, descritivo e comparativo.                                                                                                                              |
| (SILVA; DIAS; PIAZZA, 2017) <sup>15</sup> | Desempenho em atividades de simples e dupla tarefas de idosos institucionalizados que realizam e não realizam fisioterapia.                        | Fisioterapia e Pesquisa                           | Estudo de caráter transversal, descritivo e comparativo.                                                                                                                   |

## Discussão

Entre os cinco artigos da amostra final, identificou-se que o número total de pacientes que fizeram parte das investigações foram de 181 idosos que estavam institucionalizados. A faixa etária variou de 60 a 80 anos e foram pesquisados tanto homens quanto mulheres vivendo em alguma ILPI. De modo geral as intervenções fisioterapêuticas foram satisfatórias.<sup>11-15</sup>

Dois estudos das mesmas autoras foram realizados em momentos diferentes tendo como participantes idosos em ILPI's. O primeiro estudo foi publicado em 2016, no qual abordaram como objetivo comparar idosos institucionalizados que realizavam e não realizavam fisioterapia, avaliando o equilíbrio pela EEB, o risco de quedas e a independência pelo Teste de Tinetti, a mobilidade funcional pelo TUG e o nível de atividade dos idosos pelo IPAQ. Outro teste que as autoras utilizaram foi o TAF, que determina a capacidade do idoso de se deslocar dentro do limite de estabilidade, assim como o risco de quedas.<sup>14</sup>

Na avaliação do equilíbrio, da mobilidade funcional e da independência do idoso, o estudo evidenciou, mesmo não apresentando diferenças significativas, que o grupo que não realizava fisioterapia apresentou maior pontuação nos testes, levando em consideração o fato de que os idosos que não realizavam fisioterapia eram mais ativos que os idosos que realizavam fisioterapia. Na avaliação do TAF, o grupo que fazia

fisioterapia apresentou menor alcance em comparação ao outro grupo, indicando baixo risco de quedas, o que causou estranheza de acordo com o histórico de quedas dos idosos.<sup>14</sup>

As autoras concluíram que os idosos que realizavam fisioterapia nas ILPIs avaliadas, em sua grande maioria, davam prioridade aos idosos com comprometimentos funcionais, o que pode justificar os resultados dos testes em relação ao outro grupo de idosos. Salientam ainda a importância da fisioterapia na promoção e prevenção em saúde para garantir maior independência funcional para o idoso.<sup>14</sup>

Já o segundo estudo destas autoras foi publicado em 2017, no qual avaliaram nas ILPI's o desempenho de atividades simples e de dupla tarefa nos idosos que realizavam e não realizavam fisioterapia. As atividades de tarefa simples foram: ficar de apoio unipodal, caminhar ao longo do corredor, subir e descer de um *step*, sendo cronometrado o tempo e a duração de cada movimento. As atividades de dupla tarefa foram as mesmas das simples, porém, associadas a segurar um copo com água (dupla tarefa motora), falando os dias da semana ao contrário (dupla tarefa cognitiva) e segurando um copo com água e dizendo os dias da semana ao contrário (dupla tarefa motora e cognitiva).<sup>15</sup>

Não foram observadas diferenças significativas nas tarefas de apoio unipodal entre os dois grupos avaliados. Porém quanto maior a complexidade da tarefa,

mais dificuldades eram apresentadas pelos idosos, diminuindo consequentemente a velocidade na realização das tarefas. Quando a investigação fisioterapêutica focou na atividade de subir e descer do *step*, foi relatado que o grupo que fazia fisioterapia conseguiu executar a tarefa mais vezes que o grupo que não fazia fisioterapia, fato que pode ser justificado pelos exercícios de fortalecimento de membros inferiores realizados nas sessões de fisioterapia.<sup>15</sup>

Assim também ocorreu com a atividade de sentar e levantar da cadeira, não foram registradas diferenças significativas. Porém o grupo que fazia fisioterapia conseguiu realizar as atividades por mais vezes, mesmo diminuindo o desempenho ao acrescentar dupla tarefa motora cognitiva. As autoras sugerem que os fisioterapeutas adicionem no programa de tratamento atividades que incluam dupla tarefa, tendo em vista a melhora da mobilidade funcional, assim como, a diminuição do risco de quedas durante as AVDs.<sup>15</sup>

Em estudo foi utilizada a Escala EEB, o TUG, o Mini Exame do Estado Mental, Teste de Fluência Verbal e Bateria de Avaliação Frontal para análise das funções cognitivas, para a verificação da mobilidade; utilizaram a Escala de Barthel e o Índice de Pfeffer, para avaliação da independência funcional. Participaram deste estudo 15 idosos, divididos em grupo experimental com N=7 e grupo controle com N=8. O grupo experimental participou de exercícios com estimulação cognitivo-motora durante 4 meses com a frequência de uma sessão semanal com uma hora de duração, e o grupo controle foi acompanhado sem intervenção. Ficou evidenciado, pelas diferenças significativas, benefícios na mobilidade, porém na função cognitiva e na funcionalidade dos idosos não foi eficaz. Os autores concluíram que a intervenção não foi efetiva, destacaram ainda que isso pode ser pelo fato do tempo e da baixa frequência semanal da intervenção.<sup>13</sup>

Em uma pesquisa foi utilizado o Mini Exame do Estado Mental, o TUG e outros testes, sendo eles: a Escala de Depressão Geriátrica (GDS -15), instrumento que avalia a depressão em idosos; a capacidade funcional foi medida pelo Questionário de Avaliação Funcional Multidimensional de Idosos (OARS) e a força muscular foi avaliada pela técnica de Daniels e Worthingan; os músculos foram graduados de acordo com a escala de Kendal, que varia de zero a cinco. O equilíbrio foi avaliado pelo Balance Scale.<sup>14</sup> Demonstrou grande número de quedas, sendo que 66% delas ocorreu dentro da instituição. De acordo com o Mini Exame do Estado Mental, a maioria dos idosos apresentaram dados positivos para déficit cognitivo, assim como uma dificuldade dos idosos em realizar AVDs. O teste TUG e o Balance Scale apresentaram prejuízos na mobilidade e alto risco de quedas. Os idosos deste estudo apresentaram grandes níveis de sintomas depressivos.<sup>11</sup>

De acordo com os estudos analisados acima, a fisioterapia ainda não é aplicada em todos os pacientes das

instituições, deixando exclusiva para pacientes com maior déficit motor. Assim é importante salientar a importância da fisioterapia na promoção e na prevenção da saúde desses idosos. Outro fato interessante foi o índice de quedas nas instituições, ao analisar estes dados pode se perceber que, quando o idoso muda o ambiente que está adaptado além de gerar em alguns sintomas depressivos, a não familiarização com o espaço prejudica o sistema cognitivo e o motor desses pacientes, sendo importante a fisioterapia desde o momento da institucionalização dos idosos.<sup>11,13-15</sup>

O único estudo da amostra que abordou a fisioterapia respiratória teve como objetivo avaliar a Pressão Inspiratória Máxima, a Pressão Expiratória Máxima e o pico de Fluxo Expiratório dos idosos institucionalizados antes e após a aplicação de técnicas manuais expansivas e incentivador respiratório orientado a fluxo (Respiron). Participaram 16 pacientes do sexo masculino, com a utilização de manovacuômetro para avaliação da força da musculatura respiratória por meio da pressão inspiratória e expiratória máxima. O pico de fluxo expiratório foi avaliado por meio do *peak flow*, que avalia a velocidade da saída de ar dos pulmões. Os idosos foram divididos em grupos e submetidos ao uso do incentivador inspiratório (Respiron) e técnicas expansivas (exercícios diafragmáticos e compressão/descompressão, técnicas manuais expansivas e incentivador inspiratório).<sup>12</sup>

Foi observada uma melhora na força da musculatura inspiratória como na expiratória, em relação à força da musculatura inspiratória e ao pico de fluxo expiratório, as técnicas de compressão e descompressão e exercícios diafragmáticos tiveram bom desempenho. Já a musculatura expiratória, o grupo em destaque é o que fez o uso do Respiron. O estudo apresentou resultados satisfatórios com a aplicação das técnicas de expansão pulmonar e o uso do Respiron, podendo ser observado o ganho de força tanto na técnica isolada como na associada ao Respiron.<sup>12</sup>

As pesquisas apresentadas na presente revisão mostram a escassez de pesquisas acerca da fisioterapia em ILPIs. Demonstra uma ausência desse profissional nestas instituições, bem como uma ausência de interesse por parte dos pesquisadores brasileiros sobre a temática. O número de estudos da amostra final reflete bem essa carência, mas reforça a necessidade da fisioterapia em voltar o olhar para a pessoa idosa vivendo em ILPIs.

## Conclusão

De acordo com os estudos, a fisioterapia em idosos institucionalizados não é uma prática que ocorre desde a prevenção até o tratamento de agravos próprios gerados pelo envelhecimento. A maioria dos idosos avaliados que faziam fisioterapia eram idosos que apresentavam alguma disfunção. E, ao comparar os idosos que faziam fisioterapia, com idosos que não faziam, alguns resultados apresentaram que os idosos que não

faziam fisioterapia e eram mais ativos que os idosos que faziam apresentaram melhores pontuações. Entretanto, ao propor um tratamento específico para esses idosos e analisar assim os dados, pode-se perceber diferença positiva significativa nesses que realizavam o protocolo de intervenção fisioterapêutico das pesquisas.

Já a fisioterapia respiratória foi satisfatória no estudo feito, porém não foi encontrado mais estudos que avaliassem esses pacientes, sendo interessante novas pesquisas que abordassem a efetividade e a importância da fisioterapia respiratória.

É importante abordar a fisioterapia desde a prevenção, assim consequentemente melhorando o número de ocorrências como as quedas, fator preocupante em idosos. Um envelhecimento saudável dentro de um ILPI deve ser viabilizado por uma equipe multiprofissional, tendo a fisioterapia importante função nesse contexto.

**Conflito de interesse:** Os autores declararam não haver nenhum conflito de interesse.

## Referências

1. Lopes GL, Santos MIPO. Funcionalidade de idosos cadastrados em uma unidade da Estratégia Saúde da Família segundo categorias da Classificação Internacional de Funcionalidade. *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* 2015;18(1):71-83.
2. Santos GS, Cunha ICKO. Avaliação da qualidade de vida de mulheres idosas na comunidade. *Revista de Enfermagem do Centro Oeste Mineiro.* 2014;4(2):1135-45.
3. Freitas MAV, Scheicher ME. Qualidade de vida de idosos institucionalizados. *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* 2010;13(3):395-401.
4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº. 283, de 26 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico que define normas de funcionamento para as Instituições de longa permanência para idosos, de caráter residencial. *Diário Oficial da União*, seção 1, 2005.
5. Lopes VM, Scofield AMTS, Alcântara RKL, Fernandes BKC, Leite SFP, Borges CL. O que levou os idosos à institucionalização? *Rev. Enferm. UFPE.* 2018;12(9):2428-35.
6. Veronese N, Cooper C, Reginster JY, Hochberg M, Branco J, Bruyère O, et al. Type 2 diabetes mellitus and osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2019;49(1):9-19.
7. Queiroz BM, Coqueiro RS, Leal Neto JS, Borgatto AF, Barbosa AR, Fernandes MH. Inatividade física em idosos não institucionalizados: estudo de base populacional. *Ciênc. saúde coletiva.* 2014;19(8):3489-96.
8. Barbosa LM, Leonardi NV, Marcon DD, Hasen D. A fisioterapia voltada para idosos dependentes em instituição de longa permanência: relato de experiência. XXII Seminário Interinstitucional, Universidade de Cruz Alta/RS, 2017.
9. Zhao M, Haley DR, Nolin JM, Dunning K, Wang J, Sun Q. Utilization, cost, payment, and patient satisfaction of rehabilitative services in Shandong, China. *Health Policy.* 2009;93(1):21-6.
10. Souza MT, Silva MD, Carvalho R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. *Einstein.* 2009;8(1):102-6.
11. Ribas RTB, Pereira RB, Guidace N, Alexandre TS. Perfil de idosos atendidos pela fisioterapia em instituições de longa permanência em Pindamonhangaba-SP. *UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde.* 2012;14(1):9-16.
12. Oliveira M, Santos CLS, Oliveira CF, Ribas DIR. Efeitos da técnica expansiva e incentivador respiratório na força da musculatura respiratória em idosos institucionalizado. *Fisioter. Mov.* 2013;26(1):133-40.
13. Menezes AV, Aguiar AS, Alves EF, Quadros LB, Bezerra PP. Efetividade de uma intervenção fisioterapêutica cognitivo-motora em idosos institucionalizados com comprometimento cognitivo leve e demência leve. *Ciênc. saúde coletiva.* 2016;21(11):3459-67.
14. Dias SMS, Silva RJM, Piazza L. Equilíbrio, mobilidade funcional e nível de atividade física de idosos institucionalizados que realizam e não realizam fisioterapia. *ConScientiae Saúde.* 2016;15(2):191-9.
15. Silva RJM, Dias SMS, Piazza L. Desempenho em atividades de simples e dupla tarefas de idosos institucionalizados que realizam e não realizam fisioterapia. *Fisioter. Pesqui.* 2017;24(2):149-56.

Artigo de revisão

# Diabetes Mellitus: Perspectivas para diagnóstico e terapêutica a partir de edição genética por CRISPR-CAS9

*Diabetes Mellitus: Perspectives for diagnosis and therapy based on CRISPR-CAS9 genetic editing*

Alexia Polo Siqueira<sup>1</sup>, Patrícia da Silva Antunes<sup>1</sup>, Kamila T Deleprani<sup>1</sup>, Beatriz Cetalle Schiavo<sup>1</sup>, Mariela Soldá Ferrari<sup>1</sup>, Mateus M dos Santos<sup>1</sup>, Lilian S Figueiredo<sup>1</sup>, Lucas Souza de Bem<sup>1</sup>, Raquel Scanavachi Bonani<sup>1</sup>, Marina M Carneiro<sup>1</sup>, Angel C Gameiro<sup>1</sup> e Pollyanna Francielli de Oliveira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL, Minas Gerais – MG, Brasil

E-mail: pollyoliveira@gmail.com

Recebido: 22 junho 2020; Aceito: 04 novembro 2020; Publicado: Maio 2021

## Resumo

**Objetivo:** abordar as diferentes aplicações da ferramenta de edição gênica “Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats” (CRISPR) e “crispr associated protein-9” (Cas9) na caracterização, prevenção, susceptibilidade genética, diagnóstico e terapêutica da diabetes mellitus (DM). **Fonte de dados:** foi realizado um levantamento bibliográfico das publicações disponíveis nas bases da *National Library of Medicine* (NIH – PubMed), *Scientific Eletronic Library Online* (Scielo) e *Scholar Google* dos últimos 20 anos, priorizando publicações dos últimos 5 anos. **Síntese dos dados:** considerando que a DM é uma doença crônica de caráter metabólico sob influência de variantes genéticas e, muitas vezes, associadas a interações ambientais, com altos índices epidemiológicos de incidência e prevalência no Brasil e no mundo e tendo diversas limitações na prática clínica e diagnóstica, ferramentas inovadoras de edição gênica possuem potencial para contribuir positivamente na problemática da DM como a CRISPR-Cas9. CRISPR é um sistema de manipulação gênica sítio-específico guiado por RNA e inspirado no funcionamento do sistema imune bacteriano que tem apresentado resultados promissores para estudo de diversas doenças. **Conclusão:** o sistema CRISPR-Cas9, apesar de algumas limitações técnicas e éticas, é promissor em virtude de sua sensibilidade e especificidade, sendo uma alternativa aos métodos clássicos para compreensão das bases genéticas e fisiopatológicas da DM e que permite desenvolver e aplicar modelos de estudo aplicados à elucidação de novas e mais eficientes estratégias de diagnóstico e tratamento.

**Palavras-chave:** diabetes mellitus; crispr-cas9; diagnóstico; terapêutica; edição gênica.

## Abstract

**Objective:** Address the different applications of the “Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats” (CRISPR) and “crispr associated protein-9” (Cas9) gene editing tool in the characterization, prevention, genetic susceptibility, diagnosis and therapeutic of diabetes mellitus (DM). **Data sources:** A bibliographic survey of the publications available in the databases of the National Library of Medicine (NIH - PubMed), Scientific Eletronic Library Online (Scielo) and Scholar Google for the last 20 years was carried out, prioritizing publications from the last 5 years. **Summary of the data:** Considering that DM is a chronic metabolic disease under the influence of genetic variants and often associated with environmental interactions, with high epidemiological rates of incidence and prevalence in Brazil and in the world and with several limitations in clinical and diagnostic practice, tools Gene editing innovators have the potential to contribute positively to the problem of DM such as CRISPR-Cas9. CRISPR is a site-specific gene manipulation system guided by RNA and inspired by the functioning of the bacterial immune system that has shown promising results for the study of several diseases. **Conclusion:** The CRISPR-Cas9 system, despite some technical and ethical limitations, is promising due to its sensitivity and specificity, being an alternative to classic methods for understanding the genetic and pathophysiological bases of DM and which allows the development and application of study models applied to the elucidation of new and more efficient diagnosis and treatment strategies.

**Keywords:** diabetes mellitus; crispr-cas9; diagnosis; therapeutics; gene editing.

## Introdução

Doenças genéticas compreendem um conjunto de patologias que têm como causa comum alterações no material genético, as quais podem ou não possuir um caráter hereditário.<sup>1</sup> Neste contexto, a diabetes mellitus (DM) apresenta-se como uma doença crônica e metabólica, sob forte influência gênica. Cerca de 9,3% da população adulta global entre 20 e 79 anos já convive com a condição e projeta-se que, entre 2030 e 2045, este número se eleve para 10,2% e 10,9%, respectivamente.<sup>2</sup> O Brasil é o 5º país com maior número de pacientes diagnosticados e o 3º a apresentar maiores despesas em saúde por indivíduo, em virtude da DM.<sup>2,3</sup>

Estratégias adotadas na prática médica buscam melhorar a qualidade de vida do paciente através da independência à insulina exógena e retorno à normalidade dos níveis sanguíneos de hemoglobina glicada.<sup>4</sup> De certo modo é realizado o transplante do pâncreas, das ilhotas pancreáticas, bem como a substituição de células  $\beta$ . Entretanto, essas metodologias são limitantes em razão da possível falta de compatibilidade entre doador-receptor e da necessidade de uma massiva imunossupressão a fim de evitar a rejeição imunológica ao transplante.<sup>4</sup> Por outro lado, a evolução da engenharia genética permitiu o surgimento de diversas modalidades de edição gênica que possibilitam modificações alvo-específicas no genoma e resultam em alterações no produto gênico, em termos de expressão ou natureza, como RNAs de interferência, zinc finger nucleases, TAL effector nucleases (TALENs) e a “*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*” (CRISPR) e “*crispr associated protein-9*” (Cas9) (CRISPR-Cas9).<sup>5-8</sup>

Nesta revisão, abordaremos as diferentes aplicações da ferramenta de edição gênica CRISPR-Cas9 na caracterização, prevenção, susceptibilidade genética, diagnóstico e terapêutica da DM.

## Materiais e Métodos

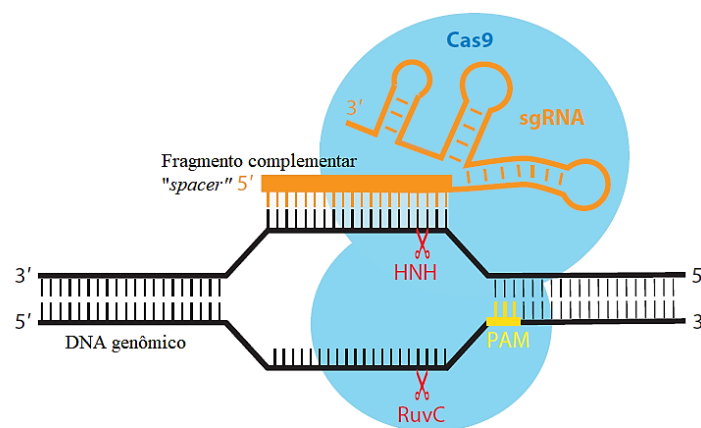
Para esta revisão de cunho qualitativo, foi realizado um levantamento bibliográfico das publicações disponíveis nas bases da *National Library of Medicine* (NIH – PubMed), *Scientific Eletronic Library Online* (SciELO) e *Scholar Google* nos últimos 20 anos. Utilizou-se os descritores: “*genome editing tools*”, “*diabetes mellitus*” e “*study model of diabetes mellitus*”. Em um primeiro momento, foram selecionados 76 trabalhos. Para compor esta revisão, 67 publicações, compreendidas entre 2004 e 2019, foram selecionadas por abordarem o tema específico e estarem atualizadas quanto às técnicas aplicadas. Optou-se pela exclusão dos trabalhos não associados especificamente ao tema ou desatualizados quanto as inovações, dando-se prioridade as publicações dos últimos 5 anos.

## Edição gênica: a CRISPR-Cas9

A ferramenta de edição gênica “*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*” (CRISPR) “*crispr associated*” (Cas), CRISPR-Cas, foi inspirada no sistema imune adaptativo de procariotos (*Archaeas*) e algumas bactérias, em resposta a invasões plasmidiais e virais.<sup>32,33</sup> Seu mecanismo consiste no reconhecimento de uma sequência específica de DNA exógeno direcionado por curtos fragmentos de RNA transcritos pelo *locus CRISPR*, que atuam como guia, seguidos da ligação da nuclease ao sítio de ação, responsável por gerar corte no material genético.<sup>34,35</sup>

Para a aplicação em edição gênica, foram elucidados os sistemas Tipo I, II e III, sendo que I e III são mais restritos em virtude de necessitarem de mais de uma endonuclease: o sistema Tipo I necessita de uma endonuclease Cas5 ou Cas6 para o pré-processamento do CRISPR-RNA (crRNA), e de uma Cas3 para a clivagem da fita de DNA, enquanto o Tipo III exige que o pré-processamento seja realizado pela Cas6 e a clivagem por um complexo de Cas chamado Csm/Cmr tipo III. Em contrapartida, o tipo II necessita apenas de uma endonuclease, a Cas9, tornando esta ferramenta a de maior aplicabilidade, reprodutibilidade e a mais simples de ser projetada.<sup>7,36</sup> Para este último, embora tenha sido observado em 1987 em cepas de *Escherichia coli*, o sistema de defesa presente em *Streptococcus pyogenes* foi adaptado e empregado como ferramenta por apresentar como endonuclease a proteína Cas9 (SpCas9).<sup>37</sup>

A Figura 1 representa a estrutura do sistema CRISPR Tipo II utilizado como ferramenta de edição gênica. O sistema compreende um complexo formado por uma endonuclease 9 associadas ao CRISPR (Cas9), e o RNA-guia (sgRNA), formado por dois RNAs não-codificantes, o crRNA e o “*trans-activating*” (tracrRNA) responsáveis pelo direcionamento sítio-específico da enzima e interação com o fragmento de DNA de interesse.<sup>6</sup> O chamado RNA-guia apresenta importância crucial na especificidade da ligação sítio-específica da ferramenta CRISPR. O crRNA compreende repetições palindrômicas de bases nitrogenadas na extremidade 3', separada por uma sequência de nucleotídeos formada por 20 pares de bases (pb), denominada “*spacer*”, enquanto, na região 5', complementar a sequência de interesse presente no DNA a ser clivado, temos sequência chamada de “*protospacer*”<sup>36</sup> (Figura 1). A importância funcional do tracrRNA é recrutar a endonuclease Cas9. Estes dois RNAs podem ser substituídos por um único RNA-guia quimérico cujo reconhecimento e interação se mostrou eficiente, como observado em proteínas Cpf1 originárias de *Acidaminococcus sp* (AsCpf1) e *Lachnospiraceae bacterium* (LbCpf1).<sup>6, 37,38</sup>

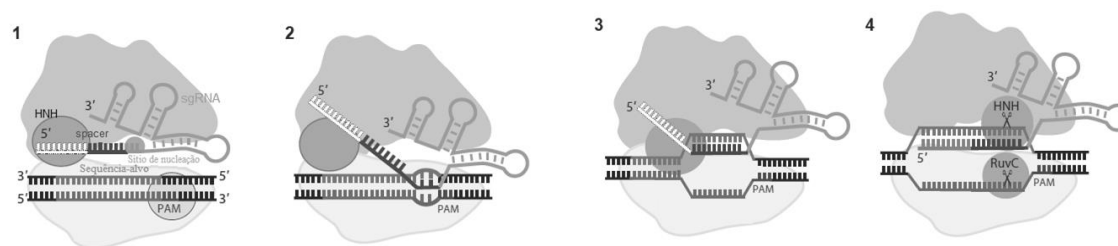


**Figura 1.** Estrutura do sistema CRISPR Tipo II utilizado como ferramenta de edição gênica. A estrutura é composta por uma molécula sintética de RNA-guia que apresenta uma sequência específica responsável pelo direcionamento da ferramenta ao sítio genômico de interesse e pela endonuclease Cas9, composta por dois domínios (HNH-like e RuvC-like) responsáveis pela clivagem das fitas de DNA. Cas9: endonuclease Cas9; sgRNA: fragmento de RNA-guia; HNH: domínio HNH-like da proteína Cas; RuvC: domínio RuvC-like da proteína Cas; PAM: sequência “Protospacer Adjacent Motif. Fonte: adaptado de Jiang e Doudna.<sup>36</sup>

### Mecanismo de edição gênica

A representação do mecanismo de reconhecimento e clivagem mediado pelo sistema CRISPR Tipo II é resumido na Figura 2. Segundo Jiang e Doudna,<sup>36</sup> o complexo efetor CRISPR-Cas9 é ativado a partir da interação entre o RNA-guia da ferramenta e a sequência de DNA em virtude da especificidade da ligação pelo crRNA e o recrutamento da Cas9 feito pelo tracrRNA. Inicia-se a busca pela sequência complementar por meio da localização da sequência “*Protospacer Adjacent Motif*” (PAM), formada por 2 a 5 pb que flanqueiam a sequência “*protospacer*” do DNA, crucial para sua identificação.<sup>36,39</sup> A sequência PAM compreende

5’-NGG-3’, sendo N qualquer base nitrogenada. Caso não a encontre, a Cas se dissocia do DNA. Em caso de sucesso, é desencadeada a abertura das fitas de DNA, seguida da invasão do RNA por entre as mesmas. Forma-se então a interação dos 20pb DNA-RNA complementares e de uma fita isolada, seguido de um rearranjo da Cas9, que sofre uma mudança conformacional que a ativa para realizar a clivagem do DNA. Assim, o RNA é considerado um regulador da função da Cas9. Cada domínio da endonuclease realiza a clivagem de uma fita de DNA, o que resulta em uma dupla quebra há 3pb de distância da sequência PAM<sup>36,39</sup> (Figura 2).



**Figura 2.** Mecanismo de reconhecimento e clivagem mediado pelo sistema CRISPR Tipo II. (1) Reconhecimento e interação do sgRNA com a sequência alvo. (2) Abertura da fita de DNA a partir do sítio de nucleação, seguida da invasão do RNA. (3) Expansão da interação por complementariedade de bases. (4) Preparo para a clivagem após finalizada a complementariedade da sequência de interesse. sgRNA: fragmento de RNA-guia; HNH: domínio *HNH-like* da proteína Cas; RuvC: domínio *RuvC-like* da proteína Cas; PAM: sequência “*Protospacer Adjacent Motif*”; *spacer*: sequência de RNA complementar a de interesse. Adaptado de Jiang e Doudna.<sup>36</sup>

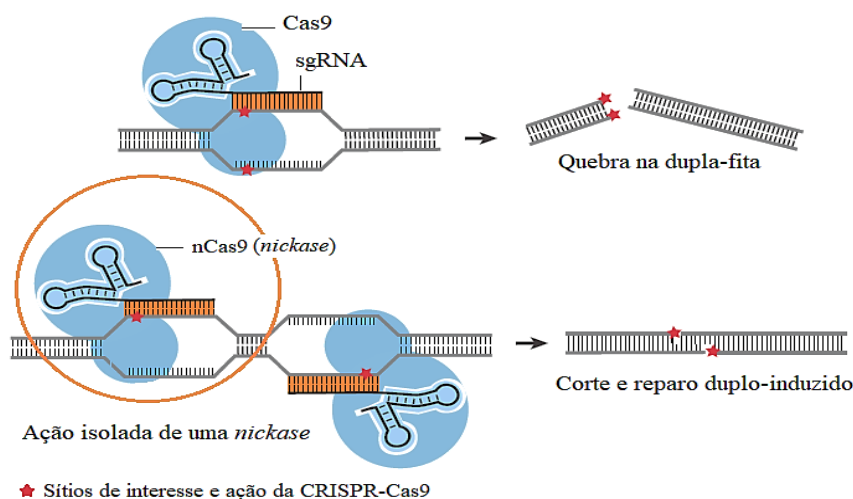
A partir deste momento é possível realizar exclusões, correções e trocas de bases, *knockouts* (silenciamento) e *knockins* (inserções de genes específicos). Na presença de manipulação gênica, o modelo de reparo da quebra da dupla fita apresenta uma sequência de interesse flanqueada por braços homólogos, que ativa a via de reparo dirigido por homologia

(“*homologous directed repair*”, HDR). Na ausência de um modelo, é ativada a via de reparo de junção de extremidade não-homóloga (“*non-homologous end joining*”, NHEJ), que pode causar inserções, deleções, e até mesmo substituições imprevisíveis.<sup>38</sup>

### Variações técnicas da CRISPR-Cas9

Além do método CRISPR de 1ª geração, a ferramenta tem sido aperfeiçoada em ferramentas de 2ª geração, com objetivo de reduzir a probabilidade de eventos em regiões fora do alvo de interesse.<sup>38</sup> Uma variação ortogonal denominada nCas9, também chamada de “nickase”, tornou possível a clivagem do material genético sem necessidade de quebra na dupla fita, mas apenas em uma das complementares,<sup>40</sup> o que pode ser

melhor visualizado na Figura 3. Este fator possibilita a troca, por exemplo, de uma base nitrogenada por outra, reduzindo inserções e deleções aleatórias de bases.<sup>41</sup> É possível trocar uma citosina (C) por timina (T), bem como adenina (A) por guanina (G), como demonstrado experimentalmente por Komor e colaboradores em 2017.<sup>6,38</sup> Outro benefício do uso da nCas9 é que nickases podem se ligar na fita senso e anti-senso, criando um corte duplo induzido, que leva ao aumento da especificidade.<sup>39</sup>



**Figura 3.** Representação da variação ortogonal de CRISPR nCas9. Cas9: endonuclease Cas9; sgRNA: fragmento de RNA-guia; nCas9: variação da endonuclease Cas9 (*nickase*). Adaptado de Wang *et al.*<sup>40</sup>

Entre as demais variações da técnica de CRISPR podemos citar a CRISPR de interferência (CRISPRi), CRISPR de ativação (CRISPRa) e a CRISPR aplicada a *knockouts* (CRISPRko). A CRISPRi utiliza uma versão da proteína Cas9, a “dead” (dCas9) que é incapaz de provocar clivagem ou introdução de mutações de DNA. Isso se deve a mutações pontuais nos domínios RuvC-like e HNH nuclease. Ainda, possui um sgRNA que se liga a sequência complementar e à sequência PAM, onde ocasiona um bloqueio da transcrição e silenciamento do gene alvo. Quando direcionada à região promotora, o complexo dCas9 interfere na transcrição do gene alvo e, direcionada ao corpo do gene, interrompe o alongamento da transcrição.<sup>37</sup> Nesta variação podem ser utilizados diversos sgRNAs simultâneos, a fim de silenciar diversos genes, o que aumenta a eficiência da repressão gênica.<sup>42</sup> Além disso, apresenta alta especificidade e efeitos mínimos fora do alvo de interesse se utilizadas duas sequências distintas de sgRNA.<sup>43</sup> A CRISPRa é considerada uma variante da CRISPRi, que empregam a dCas9 que podem ser fundidas a domínios efetores, permitindo direcionamento com precisão à uma determinada atividade funcional para qualquer *locus* arbitrário dentro do genoma.<sup>44</sup> Já a CRISPRko é aplicada à geração de *knockouts* (KO) onde se utiliza a Cas9 em sua disposição selvagem e não modificada (wtCas9) com o objetivo de clivar o DNA.<sup>45</sup> Apesar da reparação eficiente por NHEJ no silenciamento gênico, causado por quebra de

fita dupla do DNA com uso da wtCas9, a introdução inserções ou deleções torna-se indesejada, pois nem sempre resulta em gene KO, podendo gerar novas funções, além de danos excessivos ao DNA.<sup>46</sup>

### Discussão

#### CRISPR-Cas9 e os modelos de estudo aplicados a DM

Considerando o caráter ainda experimental da CRISPR, modelos de estudo são empregados para mimetizar de maneira celular, fisiológica e até mesmo farmacológica a patogenia, seu desenvolvimento, condições secundárias e outras alterações. São aplicados tanto *in vivo*, em modelos murinos, caninos, felinos, suínos, e primatas não-humanos, como *in vitro* utilizando cultura de células humanas ou animais.<sup>10,31</sup>

Modelos *in vitro* podem empregar células de cultura primária isolada de ilhotas  $\beta$  pancreáticas, células clonais imortalizadas e células tronco humanas pluripotentes para auxiliar no estudo de como genes e mecanismos moleculares contribuem para a etiologia da doença.<sup>31</sup> A vantagem deste tipo de metodologia é que por se tratarem de células humanas, reproduzem melhor o fenótipo de interesse a nível celular se comparados a células animais e modelos animais *in vivo*.<sup>47</sup> No entanto, não permite estender os riscos e as limitações de segurança técnica aplicadas nos modelos *in vivo*. Neste sentido, a aplicação de CRISPR-Cas9 é importante, pois permite compreender a geração de *knockouts*, edição de bases, regulações transcricionais de ativação e silenciamento,

introdução de uma variante genética por recombinação, e até mesmo *screenings* de identificação genômica.<sup>48</sup> No sistema *in vitro*, em células pluripotentes, que podem ser derivadas de pacientes com mutações de gene único, temos, por exemplo, um modelo simples de ser planejado e reproduzido<sup>10</sup> e bem explorado pela literatura.<sup>28,48,51</sup>

O emprego de técnicas de diferenciação direta de células tronco pluripotentes, aliados a TALEN e CRISPRi foi demonstrado por Zhu et al.<sup>51</sup>, a fim de investigar o controle de 8 fatores de transcrição relacionados ao desenvolvimento do pâncreas e a DM neonatal. Seus experimentos revelaram diversos mecanismos de desenvolvimento da doença, também relacionados ao DT2, como a ação reguladora do gene RFX6 em progenitores pancreáticos, a relação entre o gene PDX1 e diferenciação em células  $\beta$  pancreáticas e diferenças da ação do gene NGN3 entre humanos e camundongos.<sup>51</sup> Balboa et al.<sup>48</sup> têm apontado o uso de CRISPR para realização de *knockouts* em genes associados ao desenvolvimento de células  $\beta$ , como o PDX1, NEUROG3, ARX, GLIS3, NEUROD1, de modo a reproduzir o funcionamento anormal.<sup>48</sup> Correções gênicas em locos de mutações conhecidas para estudos mecanísticos, como o realizado no gene INS também tem sido realizadas.<sup>28</sup> Thomsen et al.<sup>50</sup> empregaram o silenciamento de 75 genes candidatos relacionados a DM2 em células  $\beta$  EndoC- $\beta$ H1 (modelo representativo para estudo da fisiologia e secreção de insulina humana) e revelaram que 45 genes, entre eles ARL15, ZMIZ1, e THADA estão relacionados ao funcionamento deste tipo celular.<sup>50</sup> Em 2019, Grotz et al.<sup>28</sup> elaboraram um modelo bem-sucedido ao empregar a técnica de CRISPRko para silenciar os genes INS, IDE E PAM em células  $\beta$  EndoC- $\beta$ H1, favorecendo o entendimento dos mecanismos moleculares da disfunção de células  $\beta$  e patogenia de DT1 e DT2.<sup>28</sup>

Apesar de não corresponderem fielmente ao sistema *in vivo* por uma série de fatores específicos, ensaios utilizando modelos *in vitro* funcionam como uma base de estudo por fornecem melhor entendimento sobre os genes envolvidos na fisiopatologia da DM enquanto que, a geração de *Knockouts* permite que um gene específico seja desligado possibilitando a observação do que acontece quando um organismo se desenvolve sem esse gene. A ideia é que utilizar um sistema que permite editar genes para entender seu funcionamento possa permitir futuramente que estas células sejam devolvidas ao paciente com DM, na esperança de que tais células possam ajudar a combater a doença.

Em termos práticos, há o risco de a modificação dos genes possam criar efeitos diferentes do esperado. Um ponto de preocupação é que danos genômicos, observados após a edição por CRISPR-Cas9, possam ter consequências como, por exemplo, a formação de genótipos complexos e diferentes do esperado com sequências de RNA que possam ser prejudiciais à saúde trazendo à tona o dilema ético das técnicas de edição

gênica. Neste sentido, os modelos *in vivo*, especialmente os murinos, devem ser aplicados uma vez que sua caracterização fenotípica e genotípica é bem delineada, além do manuseio simples, embora apresentem diferenças estruturais, transcricionais e fisiológicas de células humanas.<sup>28,31,50</sup> Podem ser gerados de forma espontânea, congênita, induzida por dieta ou quimicamente, bem como de modo cirúrgico.<sup>51</sup> São ideais em doenças metabólicas para que se observem interações que envolvem a fisiologia e a regulação metabólica de células e tecidos, que podem definir um fenótipo clínico. Auxilia, então, na caracterização de genes e vias relacionadas.<sup>26,52</sup>

Para estudo da DT1, Lin et al.<sup>53</sup> obtiveram animais com aumento de autoanticorpos para insulina e maior penetrância gênica de DT1, através de alterações por CRISPR-Cas9 em “NOD mouse”, que compartilha com seres humanos diversas vias associadas à doença. Foi adicionada uma variante alélica mutada da proteína fosfatase não-receptora do tipo 22, a PTPN22, associada ao aumento do risco de diabetes de 2 a 4 vezes.<sup>53</sup> Em relação à DT2, em 2018, Roh et al.<sup>54</sup> empregaram a ferramenta para geração de *knockout* nos genes da leptina (LEP) e de seu receptor (LEPR), relacionados a quadros de obesidade. Apesar de ocorrer raramente em humanos, em roedores, mutações nestes genes estão relacionadas à obesidade precoce e resistência à insulina. Este modelo promete ser um promissor para o estudo de diabetes e obesidade.<sup>54</sup>

### **CRISPR-Cas9 e a prática clínica em DM: diagnóstico e terapêutica**

Uma série de métodos diagnósticos para diabetes têm sido desenvolvidos com emprego das propriedades da CRISPR-Cas9, sendo o exemplo mais prático, a localização direta de variantes patogênicas associadas a adaptação da sequência de RNA-guia para reconhecimento sítio-específico.<sup>4</sup> Esse artifício pode ser usado para diagnóstico preditivo e diferencial, e contribuir para melhores estratégias na prática clínica.<sup>16</sup>

No caso da diabetes monogênica, o tratamento pode ser realizado com ou sem a confirmação da mutação a partir da triagem e diagnóstico clínico. Entretanto, a identificação de genes afetados é um artifício para oferecer abordagens terapêuticas mais precisas e diagnóstico diferencial em relação às outras formas da diabetes.<sup>16</sup> Já no caso da DT1, apesar de sua característica poligênica, há predominância de erros associados a haplótipos definidos do sistema HLA e de outros genes específicos que podem contribuir para um diagnóstico precoce de forma a prevenir a perda de células  $\beta$  por autoimunidade e melhorar o prognóstico e estilo de vida do paciente a partir de uma abordagem direcionada de tratamento.<sup>12</sup> Em se tratando de DT2, é primordial que se leve em consideração a interação gene-ambiente para o desenvolvimento da diabetes. Desta maneira, o reconhecimento de regiões associadas a doença de maneira precoce a seu

estabelecimento tem o potencial de beneficiar pacientes com histórico familiar de risco ou pré-diabéticos, favorecendo intervenções em estilo de vida e tratamento farmacológico personalizado.<sup>17,27</sup>

Apesar de ainda serem necessárias otimizações em seu funcionamento, o uso de CRISPR voltada à terapêutica da diabetes tem sido apenas testada em modelos animais para que, no futuro, sejam possíveis estudos clínicos de aplicação em humanos.<sup>55</sup> Em virtude dos genes associados a DT1 afetarem os sistemas imunes inato e adaptativo, estratégias promissoras ao tratamento estão associadas tanto a geração de células  $\beta$  substitutas e a manipulação da tolerância das células  $\beta$  pancreáticas ao ataque autoimune, quanto ao desempenho e efetividade das células de defesa responsáveis por esse ataque, ao reconhecer antígenos específicos. Deste modo, a edição gênica por CRISPR-Cas9 pode interferir no mecanismo de apresentação de antígenos por meio da desestruturação do componente MHC, impedindo a apresentação de antígenos próprios pelas células  $\beta$ , e também no reconhecimento pelo do mecanismo de memória celular.<sup>10,62</sup>

Este cenário de pesquisas para projeção de células  $\beta$  por CRISPR foi citado por Gerace et al.<sup>56</sup> De acordo com os pesquisadores, o direcionamento do CRISPR-Cas9 para ativação de fatores de transcrição pancreática e/ou receptores de quimosinas em células-tronco mesenquimais (MSCs) pode tornar possível a diferenciação de MSCs em células produtoras de insulina (IPCs) substitutas, capazes de manter suas propriedades imunomoduladoras através da expansão *ex vivo* e transplante.<sup>56</sup> Sneddon et al.,<sup>4</sup> também enfatiza a importância de se conseguir gerar células  $\beta$  funcionais a partir de células-tronco para secreção de insulina a fim de que possam substituir ilhotas pancreáticas.<sup>4</sup> Entretanto, tais estudos esbarram na problemática de que células  $\beta$  não existem em isolamento no modelo *in vivo*, mas sim em um microambiente dotado da presença de outras células pancreáticas, em que, inclusive, a organização no modelo humano se difere de roedores tanto em quantidade como em disposição de células  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\delta$ .<sup>57,58</sup> O bom funcionamento endócrino de células  $\beta$  dependem da citoarquitetura da ilhota, considerando-se as interações e contatos célula-célula no microambiente. Para resolução destes problemas, tem estado em voga a mimetização deste microambiente, como, por exemplo, por meio de estruturas tridimensionais.<sup>59</sup> Outra problemática é a modulação do sistema imune em resposta à implantação destas células, uma vez que agentes de imunossupressão empregados são efetivos, mas pode ser necessário um tratamento a longo prazo para se evitar rejeição o que pode vulnerabilizar o sistema imune além de serem citotóxicos para as próprias células  $\beta$ .<sup>4</sup> Como essa resposta é, em sua maioria, modulada pelo sistema HLA, Lin et al (2014), com emprego de CRISPR-Cas9 demonstrou o silenciamento da expressão dos componentes de MHC em

células tronco-embrionárias para prevenir a apresentação antigênica e, assim, uma cascata de resposta imunológica, reduzindo-se a probabilidade de uma resposta aloimune e autoimune.<sup>53</sup>

A geração de células secretoras de insulina pode ser aplicada como terapêutica e transplante em pacientes diabéticos. Giménez et al.,<sup>44</sup> demonstraram *in vitro*, ao aplicar CRISPRa fundido a ativadores transcrpcionais (dCas9-VP160) em células fibroblásticas humanas, a ativação do gene INS que comumente é silenciado epigeneticamente com um promotor totalmente metilado neste tipo de célula.<sup>45</sup> *In vivo*, Liao et al.<sup>60</sup> empregou CRISPR-Cas9 para realizar a ativação do gene PDX1, um fator de transcrição fundamental para a função e sobrevivência das células  $\beta$  pancreáticas.<sup>60,61</sup> Eles demonstraram a superexpressão do referido gene em células do fígado, ao gerar células secretoras de insulina que posteriormente foram utilizadas no tratamento da DT1 em camundongos.<sup>60</sup> Ma et al.<sup>62</sup> demonstraram que células tronco pluripotentes que continham mutação pontual no gene INS foram diferenciadas em células pancreáticas incapazes de sintetizar insulina e, após sofrerem correção genética com o sistema CRISPR-Cas9 iniciaram a síntese do hormônio.<sup>62</sup> A deleção gênica por CRISPR-Cas9 em modelo murino foi aplicada Cho et al.,<sup>63</sup> em 2019, para estudo em DT2 a fim de editar o gene DPP-4, associado à regulação da concentração do “peptídeo glucagon-like” (GLP-1) que estimula a secreção de insulina, de forma a ocasionar um aumento da sua expressão/produção (up-regulation). Foi demonstrado que, após a edição gênica, os níveis de insulina em corrente periférica foram aumentados o que leva a crer que mais uma estratégia de tratamento pode ser aplicada em humanos futuramente.<sup>63</sup>

Apesar de promissores, seus padrões de utilização ainda são conflitantes de modo que a maior preocupação se dá com a segurança dos protocolos desenvolvidos. Como descrito por Qomi et al.,<sup>35</sup> os desafios para a adoção de CRISPR consistem desde a identificação do alvo correto para a modificação desempenhada pela ferramenta, até a entrega deste sistema ao núcleo celular.<sup>35</sup> Estes fatos podem levar a diminuição da eficácia da terapia, o que motiva a procura por melhores métodos de reconhecimento e transferência ao núcleo.<sup>64</sup> A resolução de tais limitações técnicas é foco da comunidade científica atualmente, de modo que diversas melhorias já foram realizadas com objetivo de redução de erros aleatórios na identificação do gene alvo, bem como nas diversas estratégias de entrega da ferramenta com emprego ou não de vetores.<sup>51</sup>

Apesar do seu inegável potencial terapêutico, ao permitir edições em alterações genéticas e epigenéticas *in vivo*, e modificações em modelos de linhagens germinativas e somáticas, seu emprego leva ao questionamento bioético referente a riscos clínicos em aplicações terapêuticas e não-terapêuticas, e que, portanto, devem ser discutidos no que se referem a princípios

morais, religiosos, políticos e até mesmo econômicos.<sup>65-67</sup> A Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura (Unesco) manifesta que a técnica seja utilizada apenas com finalidades terapêuticas, diagnósticas e preventivas e não para tratamentos que gerem modificações hereditárias. Nas aplicações terapêuticas embrionárias, a controvérsia envolve as implicações, ainda pouco conhecidas, que essas alterações em embriões poderiam trazer para futuras gerações e mesmo se bem-sucedidas, há o risco desses tratamentos se tornarem pouco acessíveis, possibilitando o elitismo genético no qual apenas “alguns” possam gerar linhagens livres de doenças genéticas.<sup>68</sup>

## Conclusão

Embora a DM seja uma condição amplamente estudada, conhecida e descrita na medicina contemporânea, a doença apresenta alta recorrência entre indivíduos de diversas faixas etárias e uma série de comorbidades, além da problemática associada ao diagnóstico quanto à verdadeira etiologia da doença e abordagens terapêuticas melhor aplicáveis a cada caso. Trata-se de um desafio atingir independência à insulina exógena e restauração de glicemia a níveis normais uma vez que as terapias “*gold standard*” já empregadas na clínica possuem aspectos limitantes. Desta forma, é

relevante o papel de ferramentas inovadoras como a edição gênica, a fim de permitir melhor entendimento da fisiopatologia da DM de forma direcionar estratégias que possam contribuir com abordagens de diagnóstico e terapêutica personalizadas.

Desde sua recente descoberta para propósitos terapêuticos até o momento atual, apesar dos desafios metodológicos, o sistema CRISPR-Cas9 apresenta inúmeras vantagens em relação aos possíveis alvos para DM. Essas vantagens, futuramente, podem elevar o potencial clínico da metodologia, no entanto, esbarra em uma série de limites bioéticos que devem ser levados em consideração e discutidos pela comunidade médico-científica de forma a garantir uma aplicação não só eficaz, mas principalmente segura e dentro dos princípios legais da ética.

**Conflito de interesse:** Os autores declararam não haver nenhum conflito de interesse.

**Agradecimentos:** À Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) e em especial à Pró-reitoria de Extensão (PROEX) pelas bolsas de extensão institucionais concedidas aos alunos da Liga Acadêmica de Genética Humana e Médica (LAGHM/UNIFAL-MG).

## Referências

1. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Hamosh A. Thompson & Thompson: Genética Médica. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016.
2. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019;157: 107843-107853.
3. Williams R, Karuranga S, Malanda B, Saeedi P, Basit A, Besançon S, et al. Global and regional estimates and projections of diabetes-related health expenditure: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 2020;108072-10808078.
4. Sneddon JB, Tang Q, Stock P, Bluestone JA, Roy S, Desai T, Hebrok M. Stem Cell therapies for treating diabetes: progress and remaining challenges. *Cell Stem Cell.* 2018;22(6):810-23.
5. Kaufmann KB, Büning H, Galy A, Schambach A, Grez M. Gene therapy on the move. *EMBO Mol Med.* 2013;5(11):1642-61.
6. Adli M. The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. *Nat Commun.* 2018; 9(1):1-13.
7. Khan SH. Genome-editing technologies: concept, pros, and cons of various genome-editing techniques and bioethical concerns for clinical application. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2019;16:326-34.
8. Li H, Yang Y, Hong W, Huang M, Wu M, Zhao X. Applications of genome editing technology in the targeted therapy of human diseases: mechanisms, advances and prospects. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):1-23.
9. Koepfen BM, Stanton BA. Berne & Levy: Fisiologia. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2018.
10. Teo AKK, Gupta MK, Doria A, Kulkarni RN. Dissecting diabetes/metabolic disease mechanisms using pluripotent stem cells and genome editing tools. *Mol Metab.* 2015;4(9):593-604.
11. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Prim.* 2015;1(1):1-22.
12. Katsarou A, Gudbjörnsdóttir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, Jacobsen LM, Schatz DA, Lernmark A. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Prim.* 2017;3(1):1-18.
13. Cuscheri S. The genetic side of type 2 diabetes – A review. *Diabetes Metab Syndr.* 2019;13(4):2503-6.
14. Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, Darsow T, Eckel RH, Groop L, et al. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes.* 2017;66(2):241-255.
15. Karaa A, Goldstein A. The spectrum of clinical presentation, diagnosis, and management of

- mitochondrial forms of diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2015;16(1):1–9.
16. Misra S, Owen KR. Genetics of monogenic diabetes: present clinical challenges. *Curr Diab Rep*. 2018;18(12):141.
  17. Kleinberger JW, Pollin TI, Medicine G. Personalized medicine in diabetes mellitus: current opportunities and future prospects. *Ann N Y Acad Sci*. 2016;1346(1):45–56.
  18. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2015;38:S8–16.
  19. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2014;383(9911):69–82.
  20. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2018;391(10138):2449–62.
  21. Care D, Suppl SS. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes - 2019. *Diabetes Care*. 2019;42:S13–28.
  22. Törn C, Hadley D, Lee HS, Hagopian W, Lernmark Å, Simell O, et al. Role of type 1 diabetes associated SNPs on risk of autoantibody positivity in the TEDDY study. *Diabetes*. 2015;64(5):1818–29.
  23. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006;444(7121):840–6.
  24. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*. 2007;445(7130):881–5.
  25. Beer NL, Gloyn AL. Genome-edited human stem cell-derived beta cells: a powerful tool for drilling down on type 2 diabetes GWAS biology. *F1000Res*. 2016;5:1–12.
  26. da Silva Xavier G, Hodson DJ. Mouse models of peripheral metabolic disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2018;32(3):299–315.
  27. Kwak SH, Park KS. Recent progress in genetic and epigenetic research on type 2 diabetes. *Exp Mol Med*. 2016;48(3):e220.
  28. Grotz AK, Abaitua F, Navarro-Guerrero E, Hastoy B, Ebner D, Gloyn AL. A CRISPR/Cas9 genome editing pipeline in the EndoC- $\beta$ H1 cell line to study genes implicated in beta cell function. *Wellcome Open Res*. 2019;4:150.
  29. Bonnefond A, Clément N, Fawcett K, Yengo L, Vaillant E, Guillaume JL, et al. Rare MTNR1B variants impairing melatonin receptor 1B function contribute to type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2012;44(3):297–301.
  30. Mahajan A, Taliun D, Thurner M, Robertson NR, Torres JM, Rayner NW, et al. Fine-mapping of an expanded set of type 2 diabetes loci to single-variant resolution using high-density imputation and islet-specific epigenome maps. *Nat Genet*. 2018;50(11):1505–13.
  31. Balboa D, Prasad RB, Groop L, Otonkoski T. Genome editing of human pancreatic beta cell models: problems, possibilities and outlook. *Diabetologia*. 2019;62(8):1329–1336.
  32. Makarova KS, Wolf YI, Alkhnbashi OS, Costa F, Shah SA, Saunders SJ, et al. An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol*. 2015;13(11):722–36.
  33. Rath D, Amlinger L, Rath A, Lundgren M. The CRISPR-Cas immune system: Biology, mechanisms and applications. *Biochimie*. 2015;117:119–28.
  34. Koonin EV, Makarova KS, Zhang F. Diversity, classification and evolution of CRISPR-Cas systems. *Curr Opin Microbiol*. 2017;37:67–78.
  35. Qomi SB, Asghari A, Mojarad M. An Overview of the CRISPR-based genomic and epigenome editing system: function, applications, and challenges. *Adv Biomed Res*. 2019;8:49.
  36. Jiang F, Doudna JA. CRISPR–Cas9 structures and mechanisms. *Annu Rev Biophys*. 2017;46:505–29.
  37. Wu X, Kriz AJ, Sharp PA. Target specificity of the CRISPR-Cas9 system. *Quant Biol*. 2014;2(2):59–70.
  38. Komor AC, Badran AH, Liu DR. CRISPR-based technologies for the manipulation of eukaryotic genomes. *Cell*. 2017;168(1–2):20–36.
  39. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*. 2014;346(6213):1258096.
  40. Wang H, La Russa M, Qi LS. CRISPR/Cas9 in genome editing and beyond. *Annu Rev Biochem*. 2016;85(1):227–64.
  41. Shen B, Zhang W, Zhang J, Zhou J, Wang J, Chen L, et al. Efficient genome modification by CRISPR-Cas9 nickase with minimal off-target effects. *Nat Methods*. 2014;11(4):399–402.
  42. Larson MH, Gilbert LA, Wang X, Lim WA, Weissman JS, Qi LS. CRISPR interference (CRISPRi) for sequence-specific control of gene expression. *Nat protoc*. 2013;8(11):2180–96.
  43. Gilbert LA, Larson MH, Morsut L, Liu Z, Brar GA, Torres SE, et al. CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes. *Cell*. 2013;154(2):442–51.
  44. Giménez CA, Ielpi M, Mutto A, Grosebacher L, Argibay P, Pereyra-Bonnet F. CRISPR-on system for the activation of the endogenous human INS gene. *Gene Ther*. 2016;23(6):543–7.
  45. Doench JG. Am i ready for CRISPR? A user's guide to genetic screens. *Nat Rev Genet*. 2018;19(2):67–80.
  46. Kuscu C, Parlak M, Tufan T, Yang J, Szlachta K, Wei X, Mammadov R, Adli M. CRISPR-STOP: Gene silencing through base-editing-induced nonsense

- mutations. *Nat Methods*. 2017;14(7):710–12.
47. Chen C, Cohrs CM, Stertmann J, Bozsak R, Speier S. Human beta cell mass and function in diabetes: Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Mol Metab*. 2017;6(9):943–57.
  48. Balboa D, Saarimäki-Vire J, Borshagovski D, Survila M, Lindholm P, Galli E, et al. Insulin mutations impair beta-cell development in a patient-derived iPSC model of neonatal diabetes. *Elife*. 2018;7:e38519.
  49. Zhu Z, Li QV, Lee K, Rosen BP, González F, Soh CL, et al. Genome Editing of Lineage Determinants in Human Pluripotent Stem Cells Reveals Mechanisms of Pancreatic Development and Diabetes. *Cell Stem Cell*. 2016;18(6):755–68.
  50. Thomsen SK, Ceroni A, Van De Bunt M, Burrows C, Barrett A, Scharfmann R, et al. Systematic functional characterization of candidate causal genes for type 2 diabetes risk variants. *Diabetes*. 2016;65(12):3805–11.
  51. Wang HX, Li M, Lee CM, Chakraborty S, Kim HW, Bao G, et al. CRISPR/Cas9-Based genome editing for disease modeling and therapy: Challenges and opportunities for nonviral Delivery *Chem Ver*. 2017;117(15):9874–06.
  52. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes. *Diabet Med* 2004;22(4):359–70.
  53. Lin X, Pelletier S, Gingras S, Rigaud S, Maine CJ, Marquardt K, et al. CRISPR-Cas9-mediated modification of the NOD mouse genome with Ptpn22R619W mutation increases autoimmune diabetes. *Diabetes*. 2016;65(8):2134–8.
  54. Roh JI, Lee J, Park SU, Kang YS, Lee J, Oh AR, et al. CRISPR-Cas9-mediated generation of obese and diabetic mouse models. *Exp Anim*. 2018;67(2):229–37.
  55. Uppada V, Gokara M, Rasineni GK. Diagnosis and therapy with CRISPR advanced CRISPR based tools for point of care diagnostics and early therapies. *Gene*. 2018;656:22–29.
  56. Gerace D, Martiniello-Wilks R, Nassif NT, Lal S, Steptoe R, Simpson AM. CRISPR-targeted genome editing of mesenchymal stem cell-derived therapies for type 1 diabetes: A path to clinical success? *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):62.
  57. Cabrera O, Berman DM, Kenyon NS, Ricordi C, Berggren PO, Caicedo A. The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(7):2334–39.
  58. Bosco D, Armanet M, Morel P, Niclauss N, Sgroi A, Muller YD, et al. Unique arrangement of  $\alpha$ - and  $\beta$ -cells in human islets of Langerhans. *Diabetes*. 2010;59(5):1202–10.
  59. Wojtusciszyn A, Armanet M, Morel P, Berney T, Bosco D. Insulin secretion from human beta cells is heterogeneous and dependent on cell-to-cell contacts. *Diabetologia*. 2008;51(10):1843–52.
  60. Liao HK, Hatanaka F, Araoka T, Reddy P, Wu MZ, Sui Y, et al. In vivo target gene activation via CRISPR/Cas9-Mediated trans-epigenetic modulation. *Cell*. 2017;171(7):1495–507.
  61. Fujimoto K, Polonsky, KS. Pdx1 and other factors that regulate pancreatic  $\beta$ -cell survival. *Diabetes Obes Metab*. 2009;11:30–7.
  62. Ma S, Viola R, Sui L, Cherubini V, Barbetti F, Egli D.  $\beta$  Cell replacement after gene editing of a neonatal diabetes-causing mutation at the insulin locus. *Stem Cell Rep*. 2018;11(6):1407–15.
  63. Cho EY, Ryu JY, Lee HAR, Hong SH, Park HS, Hong KS, et al. Lecithin nano-liposomal particle as a CRISPR/Cas9 complex delivery system for treating type 2 diabetes. *J Nanobiotechnology*. 2019;17(1):19–31.
  64. Wilbie D, Walther J, Mastrobattista E. Delivery aspects of CRISPR/Cas for in vivo genome editing. *Acc Chem Res*. 2019;52(6):1555–64.
  65. Kang XJ, Caparas CI, Soh BS, Fan Y. Addressing challenges in the clinical applications associated with CRISPR/Cas9 technology and ethical questions to prevent its misuse. *Protein Cell*. 2017;8(11):791–5.
  66. Liang P, Xu Y, Zhang X, Ding C, Huang R, Zhang Z, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triprenuclear zygotes. *Protein Cell*. 2015;6(5):363–72.
  67. Munsie M, Gyngell C. Ethical issues in genetic modification and why application matters. *Curr Opin Genet Dev*. 2018;52:7–12.
  68. Pluvinaige JF, Fonseca O, Velho R. Tecnologia inovadora edição de genes e desafia limites éticos. *Ciênc Cult*. 2018;70.

Artigo de revisão

# Proposta de fluxo de atendimento para crianças brasileiras diagnosticadas com maloclusão dentária nos serviços de odontologia: um estudo de revisão integrativa

*Care flow proposal for Brazilian children diagnosed with dental malocclusion in dentistry services: an integrative review study*

Karla Geovanna Ribeiro Brígido\*<sup>1</sup>, Jandenilson Alves Brígido<sup>1</sup> e Francisco José Maia Pinto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL, Minas Gerais – MG, Brasil

E-mail: karlageovannarb@gmail.com

Recebido: 22 junho 2020; Aceito: 04 novembro 2020; Publicado: x 2021

## Resumo

**Objetivo:** propor um fluxo de atendimento dos serviços odontológicos de ortodontia a partir da revisão de publicações sobre a prevalência de maloclusões em crianças brasileiras, para tornar possível planejar e executar esses atendimentos com equidade. **Fonte de dados:** foi realizada, em outubro de 2020, uma busca nas bases de dados Lilacs, PubMed e Scielo, por artigos publicados entre os anos de 2014 e 2020, utilizando os seguintes descritores: prevalência, maloclusão dentária, crianças, brasileiras; em qualquer idioma. Identificou-se 79 publicações e, após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, selecionou-se 11 artigos. A partir da análise dos estudos, foi desenvolvido um fluxo de atendimento de crianças com maloclusão dentária. **Síntese dos dados:** foram selecionados estudos transversais que avaliaram a prevalência de maloclusão em escolares brasileiros. Nos estudos avaliados, encontrou-se associação entre hábitos deletérios e condição socioeconômica com presença de maloclusão dentária. Os estudos epidemiológicos abordados nessa revisão de literatura indicam que a maior parte das crianças na fase da dentição mista apresenta algum tipo de desvio morfológico da oclusão. A atenção dada nessa fase pode ser extremamente importante para permitir o desenvolvimento normal da dentição e o estabelecimento de uma adequada relação oclusal. Ademais, é importante saber diferenciar os pacientes que se beneficiarão de uma terapia interceptora daqueles nos quais o tratamento corretivo seja essencial. **Conclusão:** a prevalência de maloclusão na população estudada foi considerada significativamente elevada, justificando, assim, a necessidade e importância de se obter dados epidemiológicos sempre atualizados, capazes de auxiliar gestores a planejarem suas ações de modo eficaz. É importante que os serviços de odontologia padronizem o fluxo de atendimento dessas crianças, numa tentativa de evitar evolução para tratamentos mais complexos e onerosos.

**Palavras-chave:** prevalência; maloclusão dentária; crianças; brasileiras.

## Abstract

**Objective:** propose a flow for attending orthodontic dental services based on a review of publications on the prevalence of malocclusions in Brazilian children, to make it possible to plan and execute dental services with equity. **Data sources:** in October 2020, a search was made in the Lilacs, PubMed and Scielo databases, for articles published between the years 2014 and 2020, using the following descriptors: prevalence, dental malocclusion, children, Brazilians; in any language. 79 publications were identified and, after applying the inclusion and exclusion criteria, 11 articles were analyzed. From the analysis of the studies, a flow for the care of children with dental malocclusion was developed. **Summary of the data:** cross-sectional studies that assessed the prevalence of malocclusion in Brazilian schoolchildren were selected. In the studies evaluated, an association was found between deleterious habits and socioeconomic condition with the presence of dental malocclusion. Epidemiological studies addressed in this literature review indicate that most children in the mixed dentition phase have some type of morphological deviation from the occlusion. The attention given in this phase can be extremely important to allow the normal development of the dentition and the establishment of an adequate occlusal relationship. Furthermore, it is important to know how to differentiate patients who will benefit from interceptive therapy from those in whom corrective treatment is essential. **Conclusion:** the prevalence of malocclusion in the studied population was considered to be significantly high, thus justifying the need and importance of obtaining updated epidemiological data, capable of helping managers to plan their actions effectively. It is important that the dental services standardize the flow of care for these children, in an attempt to prevent progression to more complex and costly treatments.

**Keywords:** prevalence; dental malocclusion; children; brazilian.

## Introdução

A maloclusão dentária apresenta-se como característica um desequilíbrio que atinge o sistema estomatognático, gerando limitações estéticas e funcionais nos indivíduos acometidos, causadas por fatores genéticos e ambientais.<sup>1</sup> Pode-se compreendê-la como uma variação clínica do crescimento normal, resultante da interação de vários fatores, como influências ambientais e congênitas, que podem gerar alterações estéticas nos dentes e/ou face, além de distúrbios na oclusão, mastigação, deglutição, fonação e respiração.<sup>2</sup>

A pesquisa SB-Brasil 2010, com crianças de 5 anos, relativa à maloclusão, indicou prevalência aproximada de 29% para alterações sobressalientes, 32% para sobremordida alterada, e 25% para mordida cruzada posterior. Além disso, observou-se que, nesta faixa etária, 69% das crianças situava-se em pelo menos, uma destas condições.<sup>3</sup> É importante ressaltar que a atenção dada nesta fase da vida pode ser extremamente importante para permitir o desenvolvimento normal da dentição e o estabelecimento de uma adequada relação oclusal, devendo a intervenção ser realizada por um profissional qualificado, sabendo diferenciar os pacientes que se beneficiarão de uma terapia interceptiva, daqueles que necessitarão de tratamento corretivo.<sup>4</sup>

A avaliação dos estudos de prevalência é importante para a implantação de políticas públicas adequadas. Conhecendo-se a situação epidemiológica, torna-se possível planejar e executar com equidade os serviços odontológicos, por meio da implementação de políticas focadas na prevenção do agravamento das maloclusões e não apenas no caráter corretivo.<sup>4,5</sup> Além disso, o cirurgião-dentista pode colaborar na gestão dos atendimentos em odontologia, propondo estratégias que evidenciem a prevenção de alterações durante a primeira infância, a partir da prevenção tanto de hábitos bucais nocivos, quanto da perda precoce de dentes, minimizando possíveis gastos com tratamentos mais complexos na dentição permanente, em que os tratamentos ortodônticos são complexos e onerosos.<sup>5,6</sup>

Após estarem estabelecidas, as maloclusões poderão gerar consequências que vão além das limitações funcionais ou meras implicações estéticas, afetando a autoestima, o bem-estar e a capacidade de socialização.<sup>6-8</sup> Elas poderão interferir nas atividades diárias dos indivíduos, como higienização, mastigação, fonação e até o ato de sorrir já mostrou ser afetado, devido a uma má percepção de beleza do indivíduo portador da oclusopatia, causando assim um comprometimento das relações sociais.<sup>7,9</sup>

Diante desse contexto, o objetivo deste estudo foi propor um fluxo de atendimento dos serviços odontológicos de ortodontia a partir da revisão de

publicações sobre a prevalência de maloclusões em crianças brasileiras, para tornar possível planejar e executar esses atendimentos com equidade.

## Metodologia

O estudo é caracterizado como uma revisão integrativa da literatura, que permite busca, avaliação crítica, síntese, análise e incorporação das evidências das produções científicas nacionais e internacionais emergidas sobre o tema.<sup>10</sup>

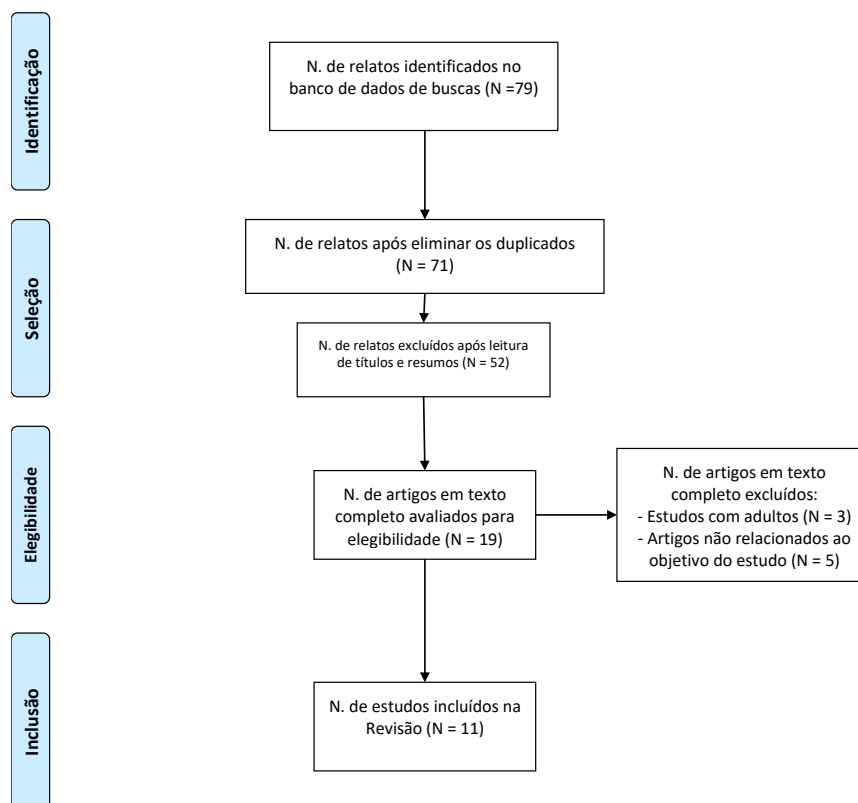
Foi realizado um levantamento bibliográfico, no mês de outubro de 2020, por meio de consulta às bases de dados: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e National Library of Medicine (Pubmed). A escolha destas fontes deveu-se à maior aproximação com os demais parâmetros da busca, bem como por terem maior quantidade de estudos indexados. Utilizaram-se descritores correspondentes ao objetivo do estudo, advindos dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e do Medical Subject Headings (MeSH): “prevalência”, “maloclusão”, “crianças” e “brasileiras”.

Nesta pesquisa foram incluídos estudos, segundo os critérios: publicações em formatos de artigos; período de publicação entre os anos 2014 e 2020; disponibilidades na íntegra, em meio eletrônico; em qualquer idioma e estudos com crianças até 12 anos. Foram excluídos editoriais, cartas, teses, dissertações, monografias, manuais, resumos de congressos; artigos duplicados em mais de uma base de dados; ou que não atendessem à questão de pesquisa, ao objetivo e descritores.

A busca foi realizada de maneira independente, por 2 revisores, que realizaram a leitura criteriosa de todos os resumos referentes aos estudos, para verificar a aderência ao tema e a capacidade de responder ao objetivo definido para esta revisão. O fichamento foi elaborado para a organização das publicações contendo as seguintes informações: autor principal; ano; local do estudo; tipo de estudo; amostra; objetivos e principais achados.

A amostra obtida, após a busca nas bases de dados estabelecidas, foi de 79 artigos. Inicialmente, realizaram-se as leituras de todos os títulos e resumos, respeitando-se os critérios de inclusão e exclusão, elegendo-se 19 estudos, para análise detalhada. Após a valiação do texto completo, excluíram-se oito, restando apenas 11 artigos (Figura 1).

A análise dos estudos selecionados, além de outros estudos sobre hábitos bucais deletérios e a vivência clínica na especialidade de ortodontia no serviço público, serviram de alicerce para a construção de uma sugestão de fluxograma de atendimento de crianças que apresentam maloclusão dentária.



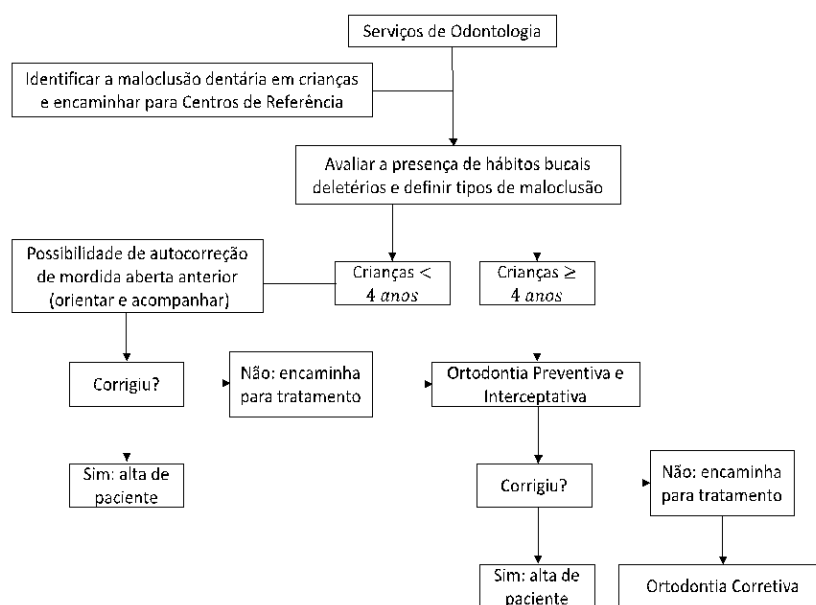
**Figura 1.** Fluxograma de identificação dos artigos.

## Resultados

O levantamento abordou o período de publicação de 2014 a 2018. As amostras dos estudos variaram de 81 a 6.855 pacientes. A idade dos grupos de pacientes variou de 4 a 12 anos. Em relação à região, foram encontrados: um estudo na Região Norte do Brasil, um na Região Nordeste, um na Região Centro-oeste, quatro na Região Sudeste e dois na Região Sul. Duas pesquisas<sup>18,19</sup> utilizaram amostras de vários municípios, de todas as

regiões brasileiras.

A Tabela 1 permite verificar o local e tipo de estudo, objetivos, amostra utilizada e idade das crianças, além dos principais achados dos 11 artigos selecionados. Tais dados nortearam a descrição e discussão dos resultados deste artigo e respaldaram a construção da proposta de fluxo para os atendimentos odontológicos de crianças como diagnóstico de maloclusão dentária (Figura 2).



**Figura 2.** Fluxo de atendimento de crianças diagnosticadas com maloclusão.

**Tabela 1.** Registro sumarizado dos estudos, autor, ano de publicação, local e tipo de estudo, objetivos, amostra e idade das crianças, e resultados.

| Autor, ano                              | Local e Tipo de Estudo               | Objetivos                                                                                                                                               | Amostra (n) e Idade  | Principais Achados                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Miotto et al., 2014 <sup>11</sup>       | Vitória – Sudeste Transversal        | Avaliar a prevalência de mordida aberta anterior e a possível associação com hábitos deletérios em crianças.                                            | 920<br>3 a 5 anos    | A prevalência de mordida aberta foi de 20%. Crianças que possuem o hábito de sucção digital tiveram uma chance 3 vezes maior de apresentar mordida aberta, enquanto para aqueles que usavam chupeta, o risco foi 5 vezes maior.                                                    |
| Normando et al., 2014 <sup>12</sup>     | Belém – Norte Transversal            | Avaliar a influência da condição socioeconômica na prevalência de maloclusão na dentição decídua em uma população amazônica.                            | 652<br>3 a 6 anos    | Foi observada uma alta prevalência de maloclusão (81,44%) na amostra examinada. As meninas das escolas públicas exibiram uma prevalência significativamente menor (72,1%) em comparação às das escolas privadas (84,7%).                                                           |
| Jordão et al., 2015 <sup>13</sup>       | Goiânia – Centro-oeste Transversal   | Descrever a prevalência da maloclusão e sua associação com fatores individuais e contextuais entre escolares brasileiros.                               | 2.075<br>12 anos     | A prevalência de maloclusão foi de 40,1%. As desigualdades na sua distribuição foram determinadas por fatores individuais e contextuais.                                                                                                                                           |
| Leôncio et al., 2015 <sup>14</sup>      | Patos – Nordeste Transversal         | Verificar a prevalência de maloclusão em pré-escolares de creches públicas.                                                                             | 131<br>5 anos        | Evidenciou-se uma prevalência de 38,2% de maloclusão nas crianças avaliadas, com os maiores índices para a mordida aberta anterior (30,0%) e a sobremordida (28,0%).                                                                                                               |
| Vedovello et al., 2016 <sup>15</sup>    | Piracicaba – Sudeste Transversal     | Examinar as associações entre as maloclusões e a abordagem contextual de qualidade de vida e status socioeconômico.                                     | 1.256<br>7 a 10 anos | 82,1% das crianças apresentavam algum tipo de maloclusão. Maior idade associada com baixo nível socioeconômico foi determinante para problemas oclusais.                                                                                                                           |
| Vilain et al., 2016 <sup>16</sup>       | Criciúma – Sul Transversal           | Analisar a prevalência da maloclusão em escolares.                                                                                                      | 100<br>5 anos        | As meninas apresentaram mais maloclusão (58%). A sobressaliência foi a mais prevalente e 100% das crianças que a apresentaram necessitaram de intervenção ortodôntica.                                                                                                             |
| Pereira et al., 2017 <sup>17</sup>      | Porto Alegre – Sul Transversal       | Avaliar a prevalência de maloclusão em crianças e sua associação com a realização de consultas odontológicas em um serviço de Atenção Primária à Saúde. | 81<br>4 anos         | Prevalência total de maloclusão foi de 33,3%. Não houve associação entre maloclusão e número de consultas odontológicas.                                                                                                                                                           |
| Bauman et al., 2018 <sup>18</sup>       | 5 Regiões do Brasil Transversal      | Avaliar a prevalência e distribuição da maloclusão em Pré-escolares brasileiros e sua associação com macrorregião, habitação, gênero e cor de pele.     | 6.855<br>5 anos      | 63,2% das crianças tinham pelo menos um dos problemas oclusais avaliados. Menor probabilidade da presença de maloclusão foi identificada entre os residentes da Região Norte e do sexo masculino. Não foram identificadas associações relativas à raça e localização do município. |
| Corrêa-Faria et al., 2018 <sup>19</sup> | 44 cidades brasileiras Transversal   | Investigar a associação entre a proporção de crianças amamentadas e a prevalência de maloclusão na dentição decídua.                                    | 5.278<br>5 anos      | A prevalência de maloclusão foi de 63,3%. As cidades com maior prevalência de amamentação entre os 9-12 meses apresentaram menor prevalência de maloclusão.                                                                                                                        |
| Dutra et al., 2018 <sup>20</sup>        | Belo Horizonte - Sudeste Transversal | Avaliar o impacto da maloclusão na qualidade de vida de crianças e sua prevalência.                                                                     | 270<br>8 a 10 anos   | A prevalência de maloclusão foi de 41,9%. Crianças com oclusão normal ou maloclusão leve apresentaram 56% menos probabilidade de impacto na qualidade de vida.                                                                                                                     |
| Guimarães et al., 2018 <sup>21</sup>    | Diamantina – Sudeste Transversal     | Avaliar a prevalência e impacto da maloclusão na qualidade de vida relacionada à saúde bucal entre escolares.                                           | 390<br>8 a 10 anos   | A prevalência de maloclusão foi de 78,7%. A prevalência de má oclusão foi alta na amostra investigada e exerceu um impacto negativo na qualidade de vida.                                                                                                                          |

## Discussão

Na pesquisa de Miotto et al.<sup>11</sup>, foi identificada que a prevalência de mordida aberta foi maior em crianças que apresentavam hábitos deletérios. Amary et al.<sup>22</sup>, ao realizar a comparação para maloclusão e hábitos de sucção, em uma amostra de pré-escolares, chegou ao percentual de que 70,9% das crianças que apresentavam o hábito de sucção digital, sucção de chupeta e/ou sucção de dedo, desenvolveu algum tipo de alteração oclusal. Entretanto, Almeida et al.<sup>23</sup>, ao realizarem um estudo retrospectivo, concluíram que estes hábitos não foram fatores determinantes de desenvolvimento de maloclusão, na amostra estudada.

Apesar de haver divergência entre os autores, a etiologia da mordida aberta é multifatorial, podendo ter como origem fatores ambientais e hereditários, em que resultados distintos poderão ter relação com aspectos sociais e culturais. A maloclusão é uma anomalia dentária que pode estar relacionada a vários fatores etiológicos, entre eles os hábitos bucais nocivos, sendo a remoção destes hábitos, essencial para a prevenção e correção da anomalia. É um problema de saúde pública que tem sido amplamente estudada ao longo dos anos, porém a maioria dos estudos de prevalência de maloclusão na dentição decídua é realizada em pré-escolares<sup>24,25</sup>. Conforme as bases pesquisadas, foram encontrados raros estudos de base populacional, que investigaram todas as crianças de uma comunidade. Além disso, o nível socioeconômico pode influenciar significativamente a prevalência e a severidade da maloclusão, devido ao menor acesso ao tratamento odontológico, como relatado por Vedovello et al.<sup>15</sup>, que encontrou associação entre o baixo nível socioeconômico e os problemas oclusais. No entanto, Normando et al.<sup>12</sup> apresentaram que meninas das escolas públicas exibiam prevalência menor (72,1%), em comparação às das escolas privadas (84,7%).

Embora, com grande variabilidade, os estudos epidemiológicos abordados nessa revisão de literatura, indicam que a maior parte das crianças, na fase da dentição mista, apresenta algum tipo de desvio morfológico da oclusão, chegando a uma prevalência de 82,1%<sup>15</sup>, 81,44%<sup>12</sup>, ou mesmo de 78,7%<sup>21</sup>. A alta prevalência observada, coincide com a relatada por Brito et al.<sup>26</sup>, que encontraram 80,84% de maloclusão em crianças de 9 a 12 anos. Em contrapartida, Albuquerque et al.<sup>27</sup> relataram em seu estudo uma menor prevalência (40,7%), o que pode ser justificado pelo fato de sua amostra ter sido composta por crianças de até 3 anos de idade, sugerindo que os desvios oclusais ocorrem com menor frequência na dentição decídua. Isto foi corroborado na presente revisão com os achados de Pereira et al.<sup>17</sup>, que encontrou uma prevalência de 33,3%, em crianças de 4 anos, e de Leôncio et al.<sup>14</sup>, 38,2% em crianças de 5 anos. Diante disso, pode-se relatar que fatores sociais podem afetar o estado emocional da criança e isso se manifesta através de hábitos bucais, como sucção de chupeta e sucção digital, agravando o

estabelecimento da oclusopatia.

Pode-se observar também que a prevalência das maloclusões apresenta grande variabilidade, mesmo em populações com a mesma origem, como o apresentado, no estudo de Sayn et al.<sup>28</sup>. Isso ocorre, principalmente, devido aos diferentes critérios de avaliação, aplicados pelos pesquisadores e também por diferentes amostras.

A maloclusão tem sido relacionada a diferentes condições, tais como aspectos comportamentais, socioeconômico e outros agravos bucais, como a cárie dentária. Além disso, o estabelecimento da maloclusão impacta de maneira negativa na vida cotidiana dos indivíduos, sendo relevante e necessário identificar grupos com maior prevalência, além do diagnóstico e tratamento adequado, a fim de reduzir tais impactos.<sup>29-31</sup>. Entretanto, ao longo do tempo, observou-se um significativo declínio da cárie dentária na população mundial fato este que interferiu na valorização de outros problemas bucais, com ênfase para as oclusopatias<sup>32,33</sup>.

Os artigos encontrados apresentaram grandes variações nas amostras, o que poderá ter contribuído para que houvesse uma significativa alteração, no nível de prevalência das maloclusões, nas diversas regiões avaliadas. Estes resultados não inviabilizam a fidedignidade dos estudos, mas pelo contrário, comprovam que é expressivo o nível de oclusopatias presentes entre as crianças brasileiras. Isto evidencia a necessidade da intervenção precoce, bem como, a implementação de políticas públicas direcionadas à prevenção e ao controle de problemas ortodônticos, em crianças, nesta faixa etária.

Em virtude da alta prevalência em maloclusão dentária na primeira infância, faz-se necessário, no cenário político, que os gestores planejem ações, cujas medidas preventivas dinamizem e flexibilizem o atendimento a essa parcela da população. Os profissionais que realizam atendimento nos serviços de odontologia da atenção primária devem identificar possíveis crianças portadoras de hábitos bucais deletérios, em especial, aqueles relacionados à sucção não nutritiva, tais como o uso prolongado de chupetas e a sucção digital, uma vez que são crianças com maior possibilidade de desenvolver oclusopatias. Assim, é possível realizar um trabalho de caráter preventivo, pois há estudos demonstrando que em crianças de até 4 anos de idade, há a possibilidade de autocorreção da maloclusão dentária<sup>34</sup>.

Na rotina clínica, observa-se que as crianças que apresentam a patologia já instalada podem ser tratadas com ortodontia preventiva e interceptativa, com aparelhos bucais removíveis. Somente quando não se consegue a correção da maloclusão dentária, deve-se indicar os aparelhos ortodônticos corretivos, cujos tratamentos são mais complexos, duradouros e dispendiosos.

## Conclusão

A prevalência de maloclusão na população estudada foi considerada significativamente elevada, justificando, assim, a necessidade e importância de se obter dados epidemiológicos sempre atualizados, capazes de auxiliar gestores a planejarem suas ações de modo eficaz, considerando a realidade e necessidade de cada região, visando estratégias que possam beneficiar e ampliar atendimentos a essa demanda de pacientes na rede pública.

É importante que os serviços de odontologia padronizem o fluxo de atendimento dessas crianças, numa tentativa de evitar evolução para tratamentos mais complexos e onerosos.

**Conflito de interesse:** Os autores declararam não haver nenhum conflito de interesse.

## Referências

- Perillo L et al. Genetic Association of ARHGAP21 Gene Variant with Mandibular Prognathism. *J Dent Res.* 2015; 94(4):569-576.
- Brizon VSC et al. Fatores individuais e contextuais associados à má oclusão em crianças brasileiras. *Rev. Saude Publica.* 2013; 47:118-128.
- Brasil. Ministério da Saúde (MS). Projeto SB Brasil 2010: Condições de Saúde Bucal da População Brasileira, Resultados Principais. Brasília: MS; 2012.
- Hebling SRF, Pereira AC, Hebling E, Meneghim MC. Considerações para elaboração de protocolo de assistência ortodôntica em saúde coletiva. *Cien Saude Colet* 2007; 2(4):1067-1078.
- Boeck EM, Pizzol KEDC, Navarro N, Chiozzini NM, Foschini ALR. Prevalence of malocclusion in children between 5 and 12 years old in municipal schools in Araraquara. *Rev. CEFAC.* 2013; 15: 1270-1280.
- Seehra J, Newton JT, Dibiasi AT. Bullying in schoolchildren – its relationship to dental appearance and psychosocial implications: an update for GPs. *Br Dent J.* 2011; 210: 411-415.
- Herkrath APV et al. Orthodontic treatment need, self-esteem, and oral health-related quality of life among 12-yr-old schoolchildren. *Eur J Oral Sci.* 2019; 127:254-260.
- Gatto RCJ, Garbin AJÍ, Corrente JE, Garbin CAS. The relationship between oral health-related quality of life, the need for orthodontic treatment and bullying, among Brazilian teenagers. *Dental Press J Orthod.* 2019; 24(2):73-80.
- Rodrigues FS, Costa AC, Heimer MV. Impacto das maloclusões na qualidade de vida de adolescentes. *Adolesc Saude.* 2016; 13(1):110-117.
- Mendes KD, Silveira RC, Galvão CM. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. *Texto Contexto Enferm.* 2008; 17(4):758-764.
- Miotto MHMB et al. Prevalência de mordida aberta anterior associada a hábitos orais deletérios em crianças de 3 a 5 anos de Vitória, ES. *Rev. CEFAC.* 2014; 16(4):1303-1310.
- Normando TS, Barroso RFF, Normando D. Influence of the socioeconomic status on the prevalence of malocclusion in the primary dentition. *Dental Press J. Orthod.* 2015; 20(1):74-78.
- Jordao LMB, Vasconcelos DN, Moreira RS, Freire MCM. Individual and contextual determinants of malocclusion in 12-year-old schoolchildren in a Brazilian city. *Braz. Oral res.* 2015; 29(1):1-8.
- Leôncio LL, Furtado KKFA, Chacon LD, Nóbrega CBC, Costa LED, Queiroz FS. Prevalência de má oclusão em crianças de cinco anos de idade do município de Patos, PB. *Arq Odontol.* 2015; 51(1):25-31.
- Vedovello SA, Ambrosano GM, Pereira AC. et al. Association between malocclusion and the contextual factors of quality of life and socioeconomic status. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2016; 150:58–63.
- Vilain CT, Mendes L, Simões PW, Vanni PJJ, Ceretta LB, Ceretta RA, et al. Prevalência de maloclusão em crianças de 05 anos de idade em um município catarinense. *Rev Odontol Univ.* 2016; 28(3):210-222.
- Pereira MR, Jardim LE, Figueiredo ME, Faustino-Silva DD. Prevalência de má oclusão em crianças de quatro anos de idade e fatores associados na Atenção Primária à Saúde. *Stomatos.* 2017; 23(45):49-58.
- Bauman JM, Souza JGS, Bauman CD, Flório, FM. Epidemiological pattern of malocclusion in Brazilian preschoolers. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2018; 23(11):3861-3868.
- Corrêa Faria P et al. Association of breastfeeding and malocclusion in 5-year-old children: Multilevel approach. *International Journal of Paediatric Dentistry.* 2018; 28:602-607.
- Dutra SR, Pretti H, Martins MT, Bendo CB, Vale MP. Impact of malocclusion on the quality of life of children aged 8 to 10 years. *Dental Press J Orthod.* 2018; 23(2):46-53.
- Guimarães SPA, Jorge KO, Fontes MJF, Ramos-Jorge ML, Araújo CTP, Ferreira EF et al. Impact of malocclusion on oral health-related quality of life among schoolchildren. *Braz. Oral Res.* 2018; 32:e95.
- Amary ICM, Rossi LAF, Yumoto VA, Assencio-Ferreira VJ; Marchesan I. Q. Hábitos deletérios – alterações de oclusão. *Rev. CEFAC.* 2002; 4(1):123-126.
- Almeida FL, Silva AMT, Serpa E. O. Relação entre má oclusão e hábitos orais em respiradores orais. *Rev. CEFAC.* 2009; 11(1):86-93.

24. Furtado ANM, Vedovello Filho M. A influência do período de aleitamento materno na instalação dos hábitos de sucção não nutritivos e na ocorrência de maloclusão na dentição decídua. *Rev. Gaúcha Odontol.* 2007; 55(4):335-341.
25. Scavone JH, Ferreira RI, Mendes TE, Ferreira FV. Prevalence of posterior crossbite among pacifier users: a study in the deciduous dentition. *Braz Oral Res.* 2007; 21(2):153-158
26. Brito DI, Dias PF, Gleiser R. Prevalência de más oclusões em crianças de 9 a 12 anos de idade da cidade de Nova Friburgo (Rio de Janeiro). *Rev Dental Press Ortod Ortop Facial.* 2009; 14(6):118-124.
27. Albuquerque SSL, Duarte RC, Cavalcanti AL. Prevalência de más oclusões em crianças com 12 a 36 meses de idade em João Pessoa, Paraíba. *Rev Dental Press Ortod Ortop Facial.* 2009; 14(6):50-57.
28. Sayn MO, Turkkahraman H. Malocclusion and crowding in an orthodontically referred turkish population. *Angle Orthod.* 2004; 74(5):635-639.
29. Moraes SPT, Mota ELA, Amorim LDAF. Fatores associados à incidência de maloclusão na dentição decídua em crianças de uma coorte hospitalar pública do nordeste brasileiro. *Rev Bras Saúde Matern Infant.* 2014; 14 (4):371-382.
30. Freitas CV et al. Necessidade de tratamento ortodôntico em adolescentes brasileiros: avaliação com base na saúde pública. *Rev Paul Pediatr.* 2015; 33 (2):204-201.
31. Da Rosa GN, Del Fabro JP, Tomazoni F, Tuchenhagen S, Alves LS, Ardenghi TM. Association of malocclusion, happiness, and oral health-related quality of life (OHRQoL) in schoolchildren. *J Public Health Dent.* 2016; 76:85–90.
32. Dutra SR Pretti H, Martins MT, Bendo CB, Vale MP. Impact of malocclusion on the quality of life of children aged 8 to 10 years. *Dental Press J Orthod.* 2018; 23(2):46-53.
33. Martins LP et al. Má oclusão e vulnerabilidade social: estudo representativo de adolescentes de Belo Horizonte, Brasil. *Ciênc. saúde coletiva.* 2019; 24(2):393-400.
34. Roscoe MG, da Silva Bonifácio SV, da Silva TB, Pinguero JMS, Lemos MM, Feres MFN. Association of Breastfeeding Duration, Nonnutritive Sucking Habits, and Malocclusion. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2018; 11(1):18-22.