



MANUSCRIPTA
MEDICA

VOLUME 2
2019





EQUIPE EDITORIAL

EDITOR CHEFE

Prof. Dr. Wesley Justino Magnabosco

EDITORES ASSOCIADOS

Profa. Dra. Adriana Paula S. Schiaveto

Profa. Dra. Andrea Carla Celotto

Profa. Dra. Celine Marques Pinheiro

Prof. Dr. Lucas Tadeu Bidinotto

EDITORES DE ÁREA

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Profa. Dra. Maria Luiza N. Mamede Rosa

CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Rodrigo Chaves Ribeiro

CIÊNCIAS HUMANAS E SAÚDE

Prof. Dr. Marco Aurélio Monteiro

EDITOR GRÁFICO

Desenhista Médico Rodrigo Tonan

EDITOR DE EXECUÇÃO

Prof. Ms. Ricardo Filipe Alves da Costa

EDITORES DE PRODUÇÃO E REVISÃO

Bibliotecária Ms. Andreia da Silva Santos

**Faculdade de Ciências da Saúde de
Barretos Dr. Paulo Prata**

Av. Loja Maçonica Revonadora 68, nº 100
Bairro Aeroporto Barretos - SP - CEP: 14785-002

SUMÁRIO

- 02.**
Editorial
Wesley Justino Magnabosco
- 03.**
Participação dos receptores metabotrópicos de glutamato e da via de sinalização por óxido nítrico no desenvolvimento da esquizofrenia
Andrea Carla Celotto et al.
- 16.**
Comparative analysis of different methods of DNA extraction from human breast tumor samples
Edenir Palmero et al.
- 24.**
Experiência do Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos na pesquisa translacional em oncologia
Aline Oliveira da Rocha et al.
- 31.**
Impacto dermatológico do uso do cigarro eletrônico - revisão da literatura
Ana Paula Trindade Moraco, Jessica Cambrea Joaquim Martins, Cristiane Botelho Miranda Cárcano
- 37.**
Cateter de longa permanência em oncologia pediátrica: como diminuir complicações
Rodrigo Chaves Ribeiro, Alexandre Alberto Barros Duarte e Simone de Campos Vieira Abib
- 43.**
Síndrome de Sweet idiopática - relato de caso
Alexandre Soares Ferreira Júnior et al.
- 47.**
Projeto Ribeirinho: alunos de medicina fazendo a diferença no atendimento de populações negligenciadas pelo sistema de saúde
Alícia Monte Vicente Medina et al.
- 55.**
Estratégia Saúde da Família e o Centro de Referência de Assistência Social: vivências e ações na trilha da intersetorialidade - Um relato de experiência
Jeverson Mauro Zanutto
- 59.**
Desenvolvimento de dispositivo de baixo custo para punção venosa periférica para treino e habilidade de estudantes de medicina: relato de experiência
Robson Aparecido dos Santos Boni et al.

EDITORIAL

Caros leitores,

Nesta nova edição da revista científica Manuscripta medica mantivemos o objetivo de fornecer uma revista com foco acadêmico e abrangente, permeando as mais diversas áreas do complexo processo da saúde humana.

Na seção de Ciências biológicas podemos observar um artigo sobre a organização de um dos maiores Biobancos da América Latina, o qual constitui uma peça fundamental para o desenvolvimento de pesquisas na área básica, principalmente na oncologia. Mas, de nada adianta uma oferta de um rico e variável material biológico sem a realização de técnicas adequadas para análise para que, a partir de grandes ideias, os pesquisadores possam obter os resultados de que necessitam para comprovar ou negar suas teorias. Assim, outro artigo interessante e que ajudará vários pesquisadores na área básica é o artigo que analisa diversas técnicas de extração de DNA, tanto em amostras de parafina quanto de tecido fresco. Indo mais adiante, na área da pesquisa translacional, publicamos um artigo que faz uma abrangente revisão sobre o papel de alguns neurotransmissores envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia, conhecimentos que podem permitir uma terapêutica mais personalizada e adequada dessa patologia e nortear pesquisas futuras para o controle e tratamento dessa condição clínica que tanto impacto causa na qualidade de vida de seus portadores e familiares.

Já a seção de Ciências da saúde iniciamos com uma revisão sobre um assunto atual e preocupante, do ponto de vista da saúde pública: o uso do cigarro eletrônico. Visto por muitos como uma alternativa menos nociva a saúde, sua utilização vem crescendo nos últimos anos, principalmente entre o público jovem. Porém, cada vez mais são publicados artigos e relatos de complicações graves devido ao seu uso. Passamos então por um artigo que mostra uma técnica mais segura para a punção venosa em crianças e outro que descreve uma doença rara, o qual pode auxiliar outros pacientes acometidos com tal patologia.

Chegando à seção das Ciências humanas voltadas à saúde, esta é considerada por nós um grande diferencial desse periódico, devido ao perfil humanístico, que é uma das características mais marcantes das instituições de ensino, pesquisa e assistência às quais estão diretamente ligadas à origem dessa revista. Nessa podemos observar artigos voltados à extensão, a importância do trabalho multiprofissional e sobre o ensino médico. O primeiro relata a experiência de alunos universitários que elaboraram, organizaram e executaram um projeto de extensão universitária com comunidades ribeirinhas, fornecendo atendimento e mudando a realidade da saúde nessa região. O outro descreve uma experiência de reuniões que apoiaram a multidisciplinariedade e a intersetorialidade no trabalho de uma equipe de saúde de família, as quais levaram a elaboração de um projeto terapêutico singular, o que possibilitou uma melhor atenção em saúde à população e levanta a discussão sobre a importância da individualização do atendimento em saúde pública em um país tão heterogêneo como o Brasil. Finalmente, o último, porém não menos importante, descreve um modelo didático criativo, efetivo e de fácil acesso com baixo custo a qualquer faculdade de saúde que se interessar.

Esperamos fornecer mais um material científico e didático, capaz de contribuir com a comunidade científica e acadêmica do país e de todo o mundo. Tenham uma boa leitura e esperamos, em breve, poder publicar um artigo com a sua contribuição.

Prof. Dr. Wesley Justino Magnabosco

Editor chefe da revista Manuscripta Medica

wesley.manuscripta@gmail.com



Participação dos receptores metabotrópicos de glutamato e da via de sinalização por óxido nítrico no desenvolvimento da esquizofrenia

Andrea Carla Celotto^{1,2}, Laísa Durigan¹, Giovanna Simões Calfi¹, Maria Luiza Nunes Mamede Rosa^{1,3}

¹Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos - Dr. Paulo Prata, SP, Brasil

²Departamento de Cirurgia e Anatomia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, SP, Brasil

³Instituto de Neurociências e Comportamento de Ribeirão Preto, USP, SP, Brasil

RESUMO

Esquizofrenia é uma perturbação mental de alta prevalência na população, desencadeada por fatores biopsicossociais, associados a fatores biológicos - genéticos e fisiológicos, que prejudicam as atividades funcionais dos indivíduos portadores. Seus sinais e sintomas são divididos em três grandes grupos: positivos, negativos e cognitivos. As drogas antipsicóticas tradicionais, que atuam diretamente na via dopaminérgica, têm demonstrado ineficiência no alívio dos dois últimos. Evidências relatam estreita relação entre a neurotransmissão dopaminérgica e sua regulação pela glutamatérgica em várias regiões cerebrais como córtex pré-frontal e hipocampo, tanto por receptores ionotrópicos quanto metabotrópicos. Os receptores metabotrópicos apresentam maior especificidade que os ionotrópicos, provavelmente devido à sua distribuição mais concentrada em áreas cerebrais específicas e sua atividade moduladora sobre a função dos próprios receptores ionotrópicos. Adicionalmente, inúmeros estudos têm contribuído para estabelecer uma relação entre a neurotransmissão glutamatérgica e o óxido nítrico na fisiopatologia da esquizofrenia. O aumento da ativação dos receptores NMDA influencia os sintomas da doença por ativarem a via de sinalização NO/cGMP/PKC. Entretanto, os estudos são ainda divergentes em relação ao papel do NO nos mecanismos cerebrais envolvidos nesta neuropatologia. Modelos experimentais farmacológicos e não farmacológicos têm sido utilizados para estudar as alterações cerebrais que ocorrem na esquizofrenia e podem contribuir para esclarecer os mecanismos envolvidos assim como identificar novos alvos terapêuticos para o tratamento de seus sintomas.

Palavras-chave: Esquizofrenia, Glutamato, Receptores metabotrópicos de glutamato, Óxido Nítrico, Isolamento social.

ABSTRACT

Schizophrenia is a highly prevalent mental disorder, triggered by biopsychosocial factors, associated with biological factors - physiological and genetic, which affects the functional ability of patients. Its signs and symptoms are divided into three groups: positive, negative and cognitive. The traditional antipsychotic drugs, which act directly into the dopaminergic pathway, have demonstrated inefficiency in relief the last two. Evidence report the strict relationship between the dopaminergic neurotransmission and its regulation by the glutamatergic one in several brain regions such as prefrontal cortex and hippocampus, by either ionotropic or metabotropic receptors. Metabotropic receptors show higher specificity than ionotropic receptors probably because their distribution in the brain is more concentrated in specific areas and also because they have modulatory effect over ionotropic receptors. Additionally, several studies have contributed to establish a relationship between glutamatergic neurotransmission and the nitric oxide in the physiopathology of schizophrenia. The increased activation of the NMDA receptors influence the symptoms of schizophrenia as they activate NO/cGMP/PKC signaling pathway. However, the studies are quite different in relation to the role of the NO in the brain mechanisms involved in this neuropathology. Pharmacological and non pharmacological experimental models have been used to study the brain alterations that occur in schizophrenia and might contribute to clarify the mechanisms involved as well as to identify new therapeutic targets to the treatment of its symptoms.

Keywords: Schizophrenia, Glutamate, Metabotropic glutamate receptor, Nitric oxide, Isolation rearing.

INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é uma doença mental cujos mecanismos fisiopatológicos são amplamente conhecidos por envolver a neurotransmissão dopaminérgica, alvo da terapêutica clássica utilizada. Entretanto, têm sido demonstrada a participação da neurotransmissão glutamatérgica por meio de diferentes tipos de receptores ionotrópicos e, mais recentemente, de receptores metabotrópicos. Adicionalmente, evidências têm levado à sugestão de que a neurotransmissão glutamatérgica ativa vias de sinalização envolvendo o óxido nítrico nos mecanismos que levam ao desenvolvimento da esquizofrenia. A revisão apresentada a seguir faz uma abordagem considerando o conjunto destes aspectos.

Esquizofrenia

A esquizofrenia é vista como uma perturbação mental caracterizada por sintomatologia específica e alterações multidimensionais que afetam inúmeras funções do indivíduo¹. É considerada uma doença de causa multifatorial² incluindo fatores biopsicossociais. Algumas situações como ansiedade extrema, alto nível de estresse e trauma emocional podem atuar em conjunto com os fatores biológicos que desencadeiam a doença, além de infecções, complicações obstétricas, abuso de drogas, fundo urbano, sazonalidade ao nascimento (maior ocorrência para indivíduos nascidos nos meses de inverno, possivelmente devido a gatilhos virais) entre outros^{3,4}. Nos âmbitos genético e fisiológico observam-se lesões de estruturas cerebrais e alterações de alguns neurotransmissores que levam à expressão da doença com a manifestação de seus sinais, sintomas e consequências⁴. Essa desordem mental afeta aproximadamente 1% da população mundial, atingindo de forma equivalente ambos os sexos e diferentes grupos socioeconômicos³. Possui incidência de 1/10.000 nascidos por ano⁵, apresenta forte componente genético que reflete herdabilidade de aproximadamente 80 a 85% e acometendo cerca de 81% de gêmeos monozigóticos^{6,7}. Entretanto, evidências demonstram que 81% dos indivíduos que são diagnosticados com esquizofrenia não possuem nenhum familiar em primeiro grau afetado e 91% não têm nenhum parente esquizofrênico. Adicionalmente, 2 a 3% da população ainda

apresentam transtorno de personalidade esquizotípico, uma forma mais branda da esquizofrenia⁹.

De forma predominante, os primeiros sinais da doença se manifestam na adolescência ou início da idade adulta⁷. É caracterizada, de acordo com uma nova teoria, como uma doença neurodegenerativa, não por ser consequência de um desenvolvimento impróprio mas sim por constituir-se a partir da degeneração progressiva e gradual do tecido nervoso cerebral^{2,10}. Os sintomas característicos da doença são divididos em três grandes domínios: positivos, como alucinações, delírios e distúrbios do pensamento; negativos, como isolamento social, anedonia e embotamento afetivo; e cognitivos, como déficit de atenção e de memória¹¹.

Na esquizofrenia, alterações estruturais foram evidenciadas em várias regiões cerebrais como sistema límbico, córtex frontal e temporal, tálamo e hipocampo¹².

Na maioria dos casos os sinais da doença começam a surgir de forma lenta, a partir de alguns sintomas inespecíficos como depressão, isolamento, desânimo, despersonalização, perda da motivação pessoal, displicência com a higiene e com a própria aparência, que permanecem por um determinado período até o surgimento de sintomas mais específicos da esquizofrenia como comportamento agressivo, automutilação, surto psicótico. Paralelamente à progressão da doença ocorre uma piora no desempenho escolar e/ou profissional, nas atividades pessoais e nas relações interpessoais, momento em que familiares e amigos passam a detectar mudanças comportamentais idiossincráticas^{4,13}.

Sabe-se que o desenvolvimento da esquizofrenia é classicamente relacionado à neurotransmissão dopaminérgica, o qual postula que os sintomas da esquizofrenia podem resultar de ambos, o excesso de dopamina nas áreas mesolímbica e estriatal levando a sintomas positivos; e o déficit dopaminérgico no córtex pré-frontal (CPF), responsável pelos sintomas negativos¹⁴. Considerando esta divisão, Field et al. (2011) estabeleceram que as drogas antipsicóticas disponíveis atualmente são eficazes na diminuição dos sintomas positivos da esquizofrenia, porém mostram-se bastante limitadas em controlar os sintomas negativos e cognitivos da doença¹⁵.

Embora a neurotransmissão dopaminérgica

seja seguramente afetada na esquizofrenia¹⁴, sendo inclusive o principal alvo terapêutico no tratamento da doença¹⁵, inúmeros estudos têm contribuído para a hipótese glutamatérgica da esquizofrenia, a qual sugere que as alterações na neurotransmissão glutamatérgica precedem as alterações dopaminérgicas e sejam desencadeadoras destas¹⁶. Uma hipofunção do glutamato nas projeções córtico estriatais levam à estimulação do circuito tálamo-cortical, resultando em uma inundação sensorial exagerada, o que leva a sintomas psicóticos e alterações conhecidas pelas mudanças na concentração de dopamina¹⁴.

De acordo com Kloet, Joels & Holsboer (2005) é possível relacionar alterações anatômicas e neuroquímicas no hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal a alterações comportamentais. Remodelações estruturais e proliferação celular, modificações nos sistemas aminérgicos, de neuropeptídeos e corticosteróides nestas regiões possuem o glutamato como um dos principais neurotransmissores envolvidos nestas alterações¹⁷.

Glutamato

O aminoácido glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do Sistema Nervoso Central (SNC), presente em cerca de 30-40% das sinapses cerebrais e em 80-90% das áreas envolvidas em processos cognitivos como o córtex cerebral e o hipocampo¹⁸. Dentre inúmeros mecanismos fisiológicos o glutamato participa do desenvolvimento neural, da plasticidade sináptica, das funções de aprendizado e memória¹⁹. Exerce sua ação pela interação com receptores específicos no neurônio pós-sináptico e o controle da neurotransmissão é feito por transportadores específicos, uma vez que o glutamato não possui uma enzima que o degrade como ocorre com os outros neurotransmissores¹⁹.

Os receptores do glutamato são classificados em ionotrópicos (iGluRs) e metabotrópicos (mGluRs). Os ionotrópicos incluem N-Metil-D-Aspartato (NMDA), alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropionico (AMPA) e cainato (KA). De acordo com Bressan e Pilowsky (2003), os receptores ionotrópicos contêm canais iônicos que quando ativados permitem a entrada de Na⁺ favorecendo a despolarização do neurônio e a rápida

neurotransmissão excitatória dependente do influxo de Ca²⁺²⁰. A ativação dos receptores AMPA desencadeiam uma despolarização acentuada e rápida, enquanto a ativação dos receptores NMDA desencadeiam uma despolarização de menor intensidade mas mantida. Entretanto, situações em que há elevado influxo de Ca²⁺ ocorre aumento na duração e na intensidade da despolarização dos neurônios pós-sinápticos²¹. Os receptores metabotrópicos (mGluRs) são receptores acoplados a proteínas G que, quando estimulados, desencadeiam mecanismos de resposta intracelulares através da ativação de segundos mensageiros²².

Considerando especificamente os receptores metabotrópicos, estes são divididos em oito subtipos nomeados de mGluR1 a mGluR8 e classificados em três grupos (I, II e III) com base na homologia estrutural, acoplamento a proteína G e seletividade de ligante (Tabela 1). O grupo I inclui os subtipos mGluR1 e mGluR5, predominantemente pós sinápticos e associados à formação de IP₃; o grupo II é composto pelos subtipos mGluR2 e mGluR3, pré sinápticos em sua maioria e ativam AMPc; e o grupo III engloba os subtipos mGluR4, mGluR6, mGluR7 e mGluR8, que também possuem como segundo mensageiro o AMPc²².

Tabela 1. Classificação dos receptores metabotrópicos de glutamato.

Grupo	Receptores	Segundo mensageiro predominante
I	mGluR1 e mGluR5	IP ₃
II	mGluR2 e mGluR3	AMPc
III	mGluR4, mGluR6, mGluR7 e mGluR8	AMPc

Como mencionado anteriormente, o glutamato participa de inúmeros mecanismos fisiológicos. Entretanto, em condições anormais o excesso deste neurotransmissor pode contribuir para o desenvolvimento de diversas neuropatologias como epilepsia, doença de Alzheimer, esclerose, entre outras²³. Em contraste, a hipofunção glutamatérgica tem sido associada à esquizofrenia. Neste contexto, é importante conhecer os mecanismos de recaptação do glutamato nas células neuronais e gliais, os quais determinam a concentração e o tempo de permanência

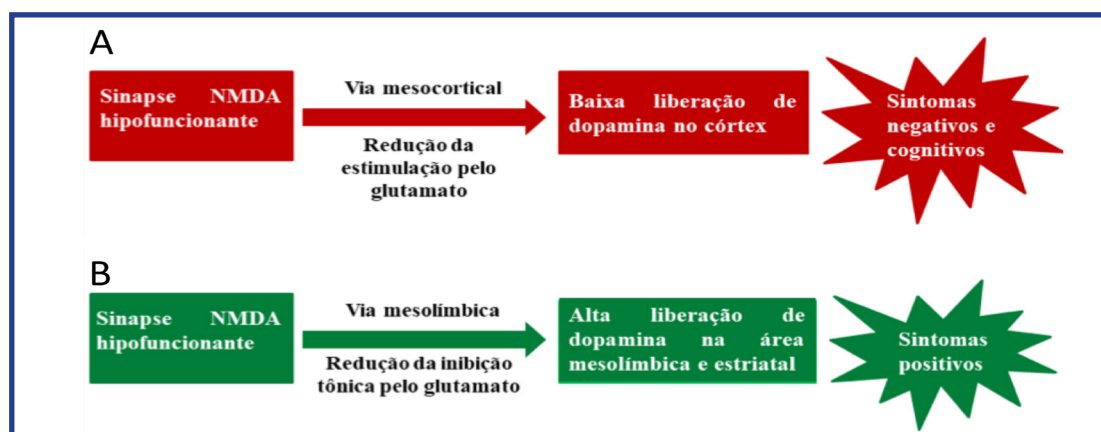


Figura 1. (A) Mecanismo de ocorrência dos sintomas negativos e cognitivos através da sinapse NMDA hipofuncionante (B) Mecanismo de ocorrência dos sintomas positivos através da sinapse NMDA hipofuncionante.

do neurotransmissor na fenda sináptica²⁴.

Glutamato e Esquizofrenia

Estudos post-mortem de cérebros de pacientes esquizofrênicos demonstraram alterações na densidade de receptores glutamatérgicos no córtex pré-frontal, tálamo e lobo temporal. Os autores também demonstraram que estas áreas cerebrais apresentaram ativação diminuída durante testes de performance nos pacientes²⁵. Adicionalmente, Kim et al. (1980) demonstraram que pacientes com esquizofrenia apresentavam diminuição na concentração de glutamato no líquido cefalorraquidiano²⁶. Estes achados são evidências da hipofunção glutamatérgica na esquizofrenia.

A relação da neurotransmissão glutamatérgica com os sintomas apresentados por indivíduos esquizofrênicos pode ser validada ao avaliar a estreita interação entre os receptores NMDA de glutamato na via mesocortical, responsável pelas funções cognitivas normais e pela motivação; e a consequente liberação de dopamina. Em situações de hipofunção da via do glutamato, há pouca liberação de dopamina no córtex, o que resulta nos sintomas negativos e cognitivos (Figura 1A). Por outro lado, na via mesolímbica, responsável pelas emoções, os neurônios glutamatérgicos são responsáveis pela inibição tônica dos receptores dopaminérgicos. Deste modo, a hipofunção dos receptores NMDA na região mesolímbica resulta em hiperatividade dopaminérgica, precipitando sintomas positivos (Figura 1B)^{25,27}.

Além dos receptores NMDA, vários estudos

realizados em humanos ou modelos experimentais têm também demonstrado hipofunção dos receptores AMPA e cainato na esquizofrenia, tanto no córtex como no hipocampo²⁸⁻³³. Enquanto há grande volume de estudos sobre a mediação glutamatérgica na esquizofrenia com foco nos receptores ionotrópicos, principalmente os NMDAs, há ainda uma baixa exploração do envolvimento dos receptores metabotrópicos, os quais tem sido demonstrados serem capazes de modular a atividade dos NMDAs^{34,35} e a neurotransmissão glutamatérgica no SNC²². Ainda, a distribuição dos receptores metabotrópicos é bastante localizada, em regiões específicas²², diferentemente dos receptores ionotrópicos, principalmente os NMDAs, cuja distribuição é difusa²³.

Receptores metabotrópicos e esquizofrenia

Foi demonstrado que o mGluR1 é capaz de diminuir a liberação de dopamina no estriado dorsal³⁶ e diminuir a hiperlocomoção e o déficit de inibição pelo prepulso, assim como reverter os déficits de interação social³⁷. Evidências também demonstram a importância do mGluR5 (agente fundamental na plasticidade sináptica) na regulação de domínios específicos que controlam funções cognitivas e comportamentos relacionados tanto aos sintomas negativos quanto positivos da esquizofrenia³⁸. Em contraste, os receptores metabotrópicos do grupo II inibem a liberação de glutamato, o que possibilita duas abordagens em relação a estes receptores, i) a normalização da função dos receptores NMDA

e ii) a normalização dos níveis excessivos de glutamato que ocorrem na esquizofrenia, diminuindo a hiperlocomoção, estereotípias, déficits de memória funcional e efluxo cortical de glutamato³⁹⁻⁴¹. Alguns agonistas de receptores metabotrópicos já foram sintetizados e apresentaram efeito antipsicótico por reduzirem os principais sintomas da esquizofrenia²⁶. Desta forma, se torna extremamente interessante investir em uma linha de pesquisa com o objetivo de identificar novos alvos terapêuticos e contribuir para o desenvolvimento de drogas mais eficientes para o tratamento da doença, atenuando seus sinais e sintomas.

Interação entre glutamato e a via NO/GMPc (Óxido Nítrico/GMPc) na esquizofrenia

De acordo com Bernstein et al. (2011) e Coyle (2013), o aumento da ativação dos receptores NMDA ativa a via de sinalização NO/GMPc/PKC levando a um aumento da plasticidade sináptica, da neuroproteção e de ações neurotrópicas que exercem efeitos sobre os sintomas da esquizofrenia^{42,43}.

Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que potencializadores dos receptores NMDA (NMDAR) são prováveis alternativas eficientes para o tratamento de sintomas da esquizofrenia, particularmente os negativos. O glutamato e o GMPc são produzidos em excesso em indivíduos com esquizofrenia^{16,19}. Sendo assim, é possível que fatores genéticos podem contribuir para disfunções na via glutamato/NO/GMPc e este achado corrobora a proposta de que uma disfunção do NMDAR envolvido nesta via contribui para a etiologia da esquizofrenia; e que a regulação do GMPc poderia ser uma alternativa para o tratamento desta doença^{44,45}.

O óxido nítrico (NO) participa do desenvolvimento do tecido nervoso por atuar na regulação da fluidez do sangue cerebral. Este neurotransmissor é sintetizado por inúmeras células pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS) sobre o substrato L-arginina. São conhecidas três isoformas da NOS, classificadas de acordo com a sua localização predominante: isoforma I, encontrada nos tecidos neuronais e epiteliais (nNOS, óxido nítrico sintase neuronal); isoforma II, encontrada em células induzidas por citocina (iNOS, óxido nítrico sintase

induzida) e isoforma III, encontrada em células endoteliais (eNOS, óxido nítrico sintase endotelial). Todas as isoformas usam L-arginina como substrato e oxigênio molecular como “co-substrato”⁴⁶. A partir da estimulação da sinapse glutamatérgica, o glutamato liberado liga-se aos receptores NMDA e induz o influxo de Ca^{2+} , o que leva à ativação de nNOS e consequentemente da síntese de NO, o qual será liberado na pós-sinapse e atuará como mensageiro retrógrado para a pré-sinapse, restaurando o ciclo⁴⁷.

O influxo de Ca^{2+} é fundamental para a formação de radicais livres, os quais possuem funções importantes no organismo como proteção das células contra infecções e agentes externos, atuam na regulação da atividade do sistema cardiovascular como mediadores secundários, na manutenção dos níveis intracelulares de cálcio, na fosforilação e desfosforilação de proteínas e na ativação de fatores de transcrição. Porém, o influxo excessivo de Ca^{2+} induzido pela ativação demasiada dos receptores glutamatérgicos ionotrópicos (NMDA, AMPA ou KA) é altamente neurotóxico levando a lesão e/ou morte neuronal pelo aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio (ROS)⁴⁸⁻⁵².

Evidências têm demonstrado que alterações na atividade da NOS estão presentes na esquizofrenia, o que têm sinalizado a possibilidade de desenvolvimento de novas terapias atuando na síntese e liberação de NO, as quais poderiam contribuir para o tratamento desta patologia^{2,53-55}.

Achados anteriores identificaram genes de risco para esquizofrenia, como aquele que codifica a nNOS⁵⁶⁻⁵⁸. Entretanto, não foi observado alterações na atividade total da NOS (com atividade iNOS não detectável) e na expressão da proteína nNOS nesta patologia, enquanto foram detectados níveis reduzidos da proteína eNOS no córtex frontal de pacientes esquizofrênicos. Uma vez que a eNOS possui papel importante na manutenção do fluxo sanguíneo cerebral, uma redução nos níveis da proteína eNOS pode contribuir para a redução do fluxo sanguíneo cerebral que ocorre no córtex frontal desses pacientes⁵⁹.

De acordo com Shim et al. (2016), duas teorias aparentemente controversas são possíveis para a disfunção (hiper ou hipo) do NMDAR na esquizofrenia, bem como sobre a manipulação das concentrações de NO no organismo como uma forma de tratamento para

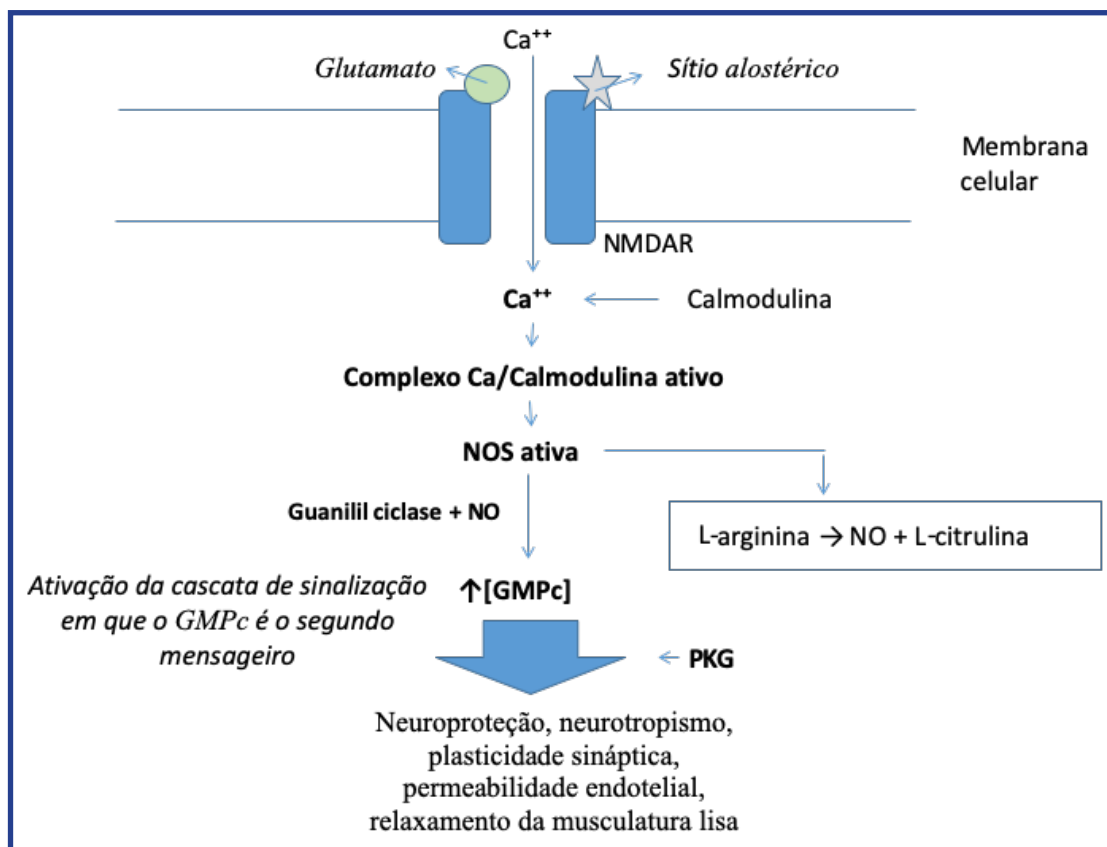


Figura 2. Via de sinalização NO/GMPc/PKG. No sítio alostérico indicado podem se ligar: antagonistas não competitivos como fenciclidina (PCP), ketamina e MK-801; agonistas do receptor como glicina e D-serina; inibidor de recaptação da glicina como sarcosina. A influência desses moduladores alostéricos têm sido estudada com o objetivo de desenvolver formas terapêuticas mais eficazes no tratamento dos sintomas da esquizofrenia⁷³.

a doença. Por meio da via de sinalização NO/GMPc/PKG demonstrada na Figura 2, existem evidências de que a aplicação de nitroprussiato, uma droga anti-hipertensiva que se converte diretamente em NO no organismo ao dar continuidade à via NO/GMPc ativada pela estimulação do NMDAR, aumenta a neuroproteção, a plasticidade sináptica e a ação neurotrópica, importantes em reduzir os sintomas da esquizofrenia⁴⁴.

Yang et al. (2016) demonstraram um aumento de dimetilarginina assimétrica (ADMA) no plasma de pacientes esquizofrênicos, o qual foi associado aos déficits cognitivos de atenção e memória. Estes achados indicam que o NO possui função importante na cognição, prejudicada nos pacientes esquizofrênicos, uma vez que o ADMA é produzido fisiologicamente durante a metilação de resíduos da proteína arginina pela ação da enzima arginina metiltransferase (PRMT) e age como um inibidor competitivo endógeno da NOS por inibir a produção de NO ao competir com o substrato L-arginina pela NOS⁶⁰.

O bloqueio de NO, impedindo a ativação das células microgliais responsáveis pelo processo neuroinflamatório pela liberação de nitroativos, radicais livres oxidativos (incluindo radicais livres de NO) e citocinas pró inflamatórias têm sido discutido como uma segunda possibilidade terapêutica para melhorar os sintomas da esquizofrenia^{61,62}. Esta hipótese é chamada “estresse oxidativo para a esquizofrenia”. O prolongado processo de neuroinflamação gera apoptose, disfunções mitocondriais, excitotoxicidade e processos neurotóxicos que contribuem para a fisiopatologia da esquizofrenia^{44,51,63-65}. O estresse oxidativo é considerado um estado limite entre o sistema antioxidante e o nível de radicais livres capaz de danificar os tecidos^{2,66}. Assim, têm sido discutido que a formação de radicais livres em resposta ao processo inflamatório poderia contribuir para a patologia da esquizofrenia e o bloqueio de sua formação seria uma possibilidade de tratamento^{44,65,67}.

Lafioniatitis et al. (2016) demonstraram que o inibidor da iNOS, aminoguanidina, neutralizou o déficit de memória de reconhecimento produzido pela

disfunção glutamatérgica e dopaminérgica em ratos induzidas por ketamina e apomorfina. Esse estudo corrobora com a hipótese do estresse oxidativo, no qual o NO proveniente da iNOS estaria envolvido no déficit de memória na esquizofrenia⁶⁸.

Os antioxidantes que atuam no equilíbrio entre oxidação/redução são as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GSH-Px)⁶⁹. Elas atuam em cooperação, bloqueando a formação de radicais livres em diferentes estágios metabólicos, sendo que o peróxido de hidrogênio formado pela SOD é decomposto em água e oxigênio pela catalase. A interrupção desse mecanismo de proteção leva à peroxidação lipídica. Entretanto, a GSH-Px é capaz de impedir o processo ao transformar hidroperóxidos tóxicos em formas menos ativas. Assim, distúrbios na ativação de qualquer uma das três enzimas tornam as membranas celulares mais vulneráveis a danos provocados por radicais livres^{2,70}. Albayrak et al. (2013) demonstraram que pacientes esquizofrênicos com sintomas negativos persistentes possuem potenciais antioxidantes totais reduzidos, ao mesmo tempo que apresentam taxas aumentadas de estresse oxidativo quando comparados a pacientes saudáveis (sem esquizofrenia)⁷¹. Posteriormente, Nasyrova et al. (2015) afirmaram que, apesar de algumas contraindicações a efetividade do tratamento baseado nos indicadores de estresse oxidativo foi confirmada².

Retomando conhecimentos clássicos e bem estabelecidos, os tratamentos antipsicóticos utilizados possuem como principais alvos terapêuticos as vias dopaminérgicas e serotoninérgicas. Entretanto, em adição ao fato de tais drogas serem pouco eficientes no tratamento dos sintomas positivos, negativos e cognitivos persistentes, aproximadamente 30% dos pacientes respondem muito pouco a estas drogas^{72,73}. Assim, é de fundamental importância estudos que possam contribuir para o esclarecimento de outras possíveis vias/mecanismos envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia, a fim de que possam ser identificados novos potenciais alvos terapêuticos para o tratamento desta patologia mais eficazes do que os já existentes.

Modelos experimentais para o estudo da esquizofrenia

Modelos experimentais tem sido amplamente utilizados para estudar as neuropatologias e tem contribuído consideravelmente para o avanço do conhecimento relacionado aos mecanismos cerebrais envolvidos. Considerando especificamente a esquizofrenia, a criação de ratos em isolamento a partir do desmame e mantidos durante todo o período do desenvolvimento cerebral constitui um modelo experimental não farmacológico que induz alterações cerebrais semelhantes àquelas que ocorrem no cérebro de humanos esquizofrênicos.

Diferentes modelos têm sido utilizados para estudar as alterações comportamentais, morfológicas, fisiológicas e neuroquímicas que ocorrem na esquizofrenia. Estes modelos, classificados basicamente como farmacológicos e não farmacológicos, utilizam principalmente ratos e tem como principal objetivo induzir alterações cerebrais semelhantes àquelas que ocorrem no cérebro de humanos portadores desta neuropatologia.

Considerando os modelos farmacológicos, a ketamina, um antagonista do receptor NMDA, quando administrada em animais induz alterações nas vias dopaminérgicas, serotoninérgicas, glutamatérgicas e GABAérgicas, resultando em um quadro fisiopatológico semelhante à esquizofrenia⁷⁴, com sintomas positivos e negativos e déficits cognitivos^{75,76}. O mecanismo pelo qual a ketamina produz os efeitos psicóticos têm sido atribuído, em parte, ao bloqueio de receptores NMDA localizados nos interneurônios GABAérgicos levando à desinibição da atividade neural de estruturas límbicas. Essa desinibição aumenta a atividade neuronal e causa a liberação em excesso da dopamina e do glutamato no córtex pré frontal e nas regiões límbicas^{77,78}. Em adição à ketamina, foi demonstrado que outros antagonistas do receptor NMDA como fenciclidina (PCP) e MK-801 quando administrados em humanos foram capazes de induzir sintomas comportamentais semelhantes aos positivos e negativos da esquizofrenia⁷⁸⁻⁸⁰ e potencializar os sintomas já existentes em pacientes portadores da doença^{78,81,82}. Quando administrados em roedores foi demonstrado que todos estes antagonistas foram capazes de provocar os mesmos sinais^{78,83}.

Modelos farmacológicos têm sido utilizados para estudar o potencial antipsicótico de vários compostos, entre eles os doadores ou inibidores

do NO. Kandratavicius et al. (2015) demonstraram que a administração de nitroprussiato de sódio e gliceriltrinitrato, doadores de NO, atenuaram a perda da memória de longo prazo e a hiperlocomução induzidas por ketamina em ratos. Da mesma forma, o pré-tratamento com azul de metileno, inibidor de NO, foi capaz de recuperar a memória de longo prazo. Esses achados mostram o impacto potencial de compostos relacionados ao NO em comportamentos induzidos por ketamina⁷⁶. Adicionalmente, a baixa produção de NO também pode estar associada aos sintomas da esquizofrenia⁷⁸. Assim, doadores de NO que levam ao aumento de sua produção podem representar um potencial terapêutico para o tratamento da esquizofrenia. Como demonstrado em outros estudos experimentais, doadores de NO como molsidomina, nitroprussiato de sódio e S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP) produziram efeitos contrários aos induzidos pelos antagonistas do receptor NMDA, como hipermotilidade, estereótipos, ataxia^{78,84-86} e déficits cognitivos em roedores^{78,86,87}.

Modelos experimentais são sempre limitados em reproduzir com fidelidade todas as características das patologias que ocorrem em seres humanos. Neste aspecto, os modelos farmacológicos de esquizofrenia não reproduzem as características etiológicas da doença, uma vez que os fármacos são administrados nos animais já adultos e a esquizofrenia, embora se manifeste no início da idade adulta, é uma doença afetiva que ocorre durante o neurodesenvolvimento.

Isolamento social a partir do desmame

Com o objetivo de reproduzir o desenvolvimento das alterações cerebrais semelhantes à esquizofrenia de forma mais fidedigna, modelos experimentais não farmacológicos foram desenvolvidos. Dentre eles, o isolamento de ratos a partir do desmame tem sido largamente empregado⁸⁸⁻⁹⁰. O isolamento social de longa duração é considerado um estressor afetivo crônico⁸⁸ e induz alterações comportamentais, fisiológicas e neuroquímicas semelhantes às que ocorrem em humanos portadores de algumas neuropatologias¹⁶. O isolamento de ratos iniciado imediatamente a partir do desmame (vigésimo primeiro dia de vida) e mantido por todo o período do desenvolvimento cerebral (no mínimo oito semanas) é o modelo experimental

não farmacológico mais utilizado na pesquisa das alterações cerebrais que ocorrem na esquizofrenia.

A submissão ao estresse afetivo no início da vida interfere negativamente nos processos do desenvolvimento cerebral como neurogênese, migração e diferenciação celular, sinaptogênese e mielinização⁹¹. Assim, neste modelo experimental o isolamento completo de ratos a partir do desmame é um estresse afetivo severo que afeta o desenvolvimento cerebral e leva a déficits afetivos e cognitivos que mimetizam o desenvolvimento da esquizofrenia em humanos^{89,90}.

Estudos em seres humanos esquizofrênicos e modelos animais de esquizofrenia demonstraram alterações estruturais semelhantes no CPF, hipocampo e amígdala basolateral (ABL)^{92,93}. Adicionalmente, foram descritas alterações de peso corporal, comportamento exploratório, inibição pelo pré-pulso do sobressalto acústico, inibição latente, anedonia, interação social, dor, esquia passiva, déficits cognitivos, ansiedade, depressão, dificuldade de aprendizado discriminativo, atrofia dendrítica do estriado, funções dopaminérgica e serotoninérgica aumentadas na área mesolímbica, déficits na memória de reconhecimento, entre outras alterações que ocorrem na esquizofrenia^{89,94-96,99}. Foi também observado que ratos isolados por um longo período tornaram-se mais agressivos e reativos, apresentando hiperfunção do córtex da glândula adrenal^{97,98}. É esperado que neste modelo experimental ocorram também mudanças na organização molecular no cérebro destes animais.

Evidências farmacológicas e terapêuticas importantes também foram descritas a partir de estudos utilizando este modelo experimental. Por exemplo, foi demonstrado que drogas antipsicóticas como a risperidona e a clozapina atenuam o comportamento agressivo induzido pela criação de ratos em isolamento, bem como o déficit do PPI1. Uma vez que estudos recentes demonstraram o envolvimento do grupo II de receptores glutamatérgicos metabotrópicos (mGluR2/3) em distúrbios psiquiátricos, Kawasaki et al (2011) analisaram a ligação do antagonista do receptor mGluR2/3, [(3)H]LY341495, no cérebro de ratos criados em isolamento. Eles demonstraram que no córtex pré-frontal, nas camadas I-III corticais e no hipocampo esta ligação foi significativamente maior nos animais isolados, enquanto que em outras regiões cerebrais não foi alterada¹⁰⁰. Isso sugere que uma disfunção da mediação glutamatérgica,

especificamente via receptor mGluR 2/3, participa das alterações cerebrais induzidas pela criação em isolamento⁹⁹. Estes pesquisadores também investigaram o potencial terapêutico do agonista seletivo para o receptor mGluR2/3, MGS0028, no tratamento de doenças psiquiátricas e demonstraram que esta droga inibe a hiperatividade e o comportamento agressivo dos ratos criados em isolamento, além de reduzir os déficits do PPI.

CONCLUSÃO

As evidências em conjunto reforçam o fato de que estudos adicionais devem ser realizados com o objetivo de esclarecer o envolvimento de outras neurotransmissões e vias de sinalização na fisiopatologia da esquizofrenia. Especificamente, um maior conhecimento sobre a neurotransmissão glutamatérgica, via receptores metabotrópicos, e a via ativada por NO representa uma contribuição fundamental para identificar novos alvos terapêuticos e aprimorar o tratamento desta e de outras doenças psiquiátricas.

AGRADECIMENTOS

Auxílio financeiro: FACISB; FAPESP (Bolsa IC, L.D., Proc: 2018/06702-0)

REFERÊNCIAS

- Guedes A da SM. Avaliação do impacto da perturbação mental na família, e implementação de um programa psicoeducacional. Universidade do Porto; 2008.
- Nasyrova RF, Ivashchenko DV, Ivanov MV, Neznanov NG. Role of nitric oxide and related molecules in schizophrenia pathogenesis: biochemical, genetic and clinical aspects. *Frontiers in physiology*. 2015;6:139.
- Van Os J, Kapur S. Schizophrenia. *Lancet*. 2009 Aug 22;374(9690):635–45.
- Silva RCB. Esquizofrenia: uma revisão. *Psicologia USP*. 2006;17(4):263–85.
- Lehman AF, Lieberman JA, Dixon LB, et al. Practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia, second edition. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 1–56.
- Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry*. 2003 Dec;60(12):1187–92.
- Brennand KJ, Simone A, Jou J, Gelboin-Burkhart C, Tran N, Sangar S, et al. Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2011;473(7346):221–5.
- Vogel F. Schizophrenia genesis: The origins of madness. *Am J Hum Genet*. 1991 Jun;48(6):1218.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ, editors. *Principles of Neural Science*, Fifth Edition. 5th edition. New York: McGraw-Hill Education / Medical; 2012; 1760.
- Hardy J, Gwinn-Hardy K. Genetic classification of primary neurodegenerative disease. *Science*. 1998;282(5391):1075–9.
- Freedman R. Schizophrenia. *New England Journal of Medicine*. 2003 Oct 30;349(18):1738–49.
- Krystal JH, D'Souza DC, Sanacora G, Goddard AW, Charney DS. Current perspectives on the pathophysiology of schizophrenia, depression, and anxiety disorders. *Med Clin North Am*. 2001 May;85(3):559–77.
- Vallada Filho H, Bussato Filho, G. Esquizofrenia. P. A, L. Dractu, R. Laranjeira (Orgs.), editor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996; 307.
- Lang UE, Puls I, Muller DJ, Strutz-Seebohm N, Gallinat J. Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem*. 2007;20(6):687–702.
- Field JR, Walker AG, Conn PJ. Targeting glutamate synapses in schizophrenia. *Trends Mol Med*. 2011 Dec;17(12):689–98.
- Li B-J, Liu P, Chu Z, Shang Y, Huan M-X, Dang Y-H, et al. Social isolation induces schizophrenia-like behavior potentially associated with HINT1, NMDA receptor 1, and dopamine receptor 2. *Neuroreport*. 2017 May 24;28(8):462–9.
- de Kloet ER, Joels M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature reviews Neuroscience*. 2005;6(6):463–75.
- Reis GC, Arruda ALA. Fisiopatologia da esquizofrenia baseada nos aspectos moleculares da hipótese glutamatérgica. *Rev Bras Farm*. 2011;92(3):118–22.
- Stroeh E. Estudo do Inibidor da 3-Hidróxi-3-Metilglutaril-Coenzima A Redutase (Atorvastatina) na Transmissão e Toxicidade Glutamatérgica. Universidade Federal de Santa Catarina; 2008.
- Bressan RA, Pilowsky LS. Glutamatergic hypothesis of schizophrenia. *Brazilian Journal of Psychiatry*. 2003 Sep;25(3):177–83.
- Kubo M, Ito E. Structural dynamics of an ionotropic glutamate receptor. *Proteins*. 2004 Aug 15;56(3):411–9.
- Maksymetz J, Moran SP and Conn PJ. 2017. Targeting metabotropic glutamate receptors for novel treatments of schizophrenia. *Mol Brain*. 10(1):15.
- Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol*. 1998 Apr;54(5):581–618.
- Grewer C, Rauen T. Electrogenic glutamate transporters in the CNS: molecular mechanism, pre-steady-state kinetics, and their impact on synaptic signaling. *J Membr Biol*. 2005 Jan;203(1):1–20.
- Araújo Neto AG de A, Bressan RA, Busatto Filho G. Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais. *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*. 2007;34:198–203.
- Seeman P. Glutamate and dopamine components in schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci*. 2009 Mar;34(2):143–

- 9.
27. Stahl SM. Beyond the dopamine hypothesis to the NMDA glutamate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *CNS Spectr*. 2007 Apr;12(4):265–8.
28. Collinge J, Curtis D. Decreased hippocampal expression of a glutamate receptor gene in schizophrenia. *Br J Psychiatry*. 1991 Dec;159:857–9.
29. Eastwood SL, McDonald B, Burnet PW, Beckwith JP, Kerwin RW, Harrison PJ. Decreased expression of mRNAs encoding non-NMDA glutamate receptors GluR1 and GluR2 in medial temporal lobe neurons in schizophrenia. *Brain Res Mol Brain Res*. 1995 Apr;29(2):211–23.
30. Eastwood SL, Kerwin RW, Harrison PJ. Immunoautoradiographic evidence for a loss of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate-preferring non-N-methyl-D-aspartate glutamate receptors within the medial temporal lobe in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1997 Mar 15;41(6):636–43.
31. Eastwood SL, Burnet PW, Harrison PJ. GluR2 glutamate receptor subunit flip and flop isoforms are decreased in the hippocampal formation in schizophrenia: a reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) study. *Brain Res Mol Brain Res*. 1997 Feb;44(1):92–8.
32. Porter RH, Eastwood SL, Harrison PJ. Distribution of kainate receptor subunit mRNAs in human hippocampus, neocortex and cerebellum, and bilateral reduction of hippocampal GluR6 and KA2 transcripts in schizophrenia. *Brain Res*. 1997 Mar 21;751(2):217–31.
33. Sestito RS, Trindade LB, de Souza RG, Kerbauy LN, Iyomasa MM, Rosa MLNM. Effect of isolation rearing on the expression of AMPA glutamate receptors in the hippocampal formation. *J Psychopharmacol (Oxford)*. 2011 Dec;25(12):1720–9.
34. Paz RD, Tardito S, Atzori M, Tseng KY. Glutamatergic Dysfunction in Schizophrenia: from basic neuroscience to clinical psychopharmacology. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008 Nov;18(11):773–86.
35. Marek GJ. Metabotropic glutamate2/3 (mGlu2/3) receptors, schizophrenia and cognition. *Eur J Pharmacol*. 2010 Aug 10;639(1–3):81–90.
36. Zhang H, Sulzer D. Glutamate spillover in the striatum depresses dopaminergic transmission by activating group I metabotropic glutamate receptors. *J Neurosci*. 2003 Nov 19;23(33):10585–92.
37. Satow A, Suzuki G, Maehara S, Hikichi H, Murai T, Murai T, et al. Unique antipsychotic activities of the selective metabotropic glutamate receptor 1 allosteric antagonist 2-cyclopropyl-5-[1-(2-fluoro-3-pyridinyl)-5-methyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-2,3-dihydro-1H-isoindol-1-one. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009 Jul;330(1):179–90.
38. Manahan-Vaughan D, Braunewell K-H. The metabotropic glutamate receptor, mGluR5, is a key determinant of good and bad spatial learning performance and hippocampal synaptic plasticity. *Cereb Cortex*. 2005 Nov;15(11):1703–13.
39. Homayoun H, Jackson ME, Moghaddam B. Activation of metabotropic glutamate 2/3 receptors reverses the effects of NMDA receptor hypofunction on prefrontal cortex unit activity in awake rats. *J Neurophysiol*. 2005 Apr;93(4):1989–2001.
40. Lorrain DS, Bacceti CS, Bristow LJ, Anderson JJ, Varney MA. Effects of ketamine and N-methyl-D-aspartate on glutamate and dopamine release in the rat prefrontal cortex: modulation by a group II selective metabotropic glutamate receptor agonist LY379268. *Neuroscience*. 2003;117(3):697–706.
41. Moghaddam B, Adams BW. Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science*. 1998 Aug 28;281(5381):1349–52.
42. Bernstein HG, Keilhoff G, Steiner J, Dobrowolny H, Bogerts B. Nitric oxide and schizophrenia: present knowledge and emerging concepts of therapy. *CNS & neurological disorders drug targets*. 2011;10(7):792–807.
43. Coyle JT. Nitric oxide and symptom reduction in schizophrenia. *JAMA psychiatry*. 2013;70(7):664–5.
44. Shim S, Shuman M, Duncan E. An emerging role of cGMP in the treatment of schizophrenia: A review. *Schizophrenia research*. 2016;170(1):226–31.
45. Docherty AR, Bigdeli TB, Edwards AC, Bacanu S, Lee D, Neale MC, et al. Genome-wide gene pathway analysis of psychotic illness symptom dimensions based on a new schizophrenia-specific model of the OPCRIT. *Schizophrenia research*. 2015;164(1–3):181–6.
46. Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, et al. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*. 1994;23(6 Pt 2):1121–31.
47. Flora Filho R, Zilberstein B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. *Metabolismo, síntese e funções*. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2000;46:265–71.
48. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society transactions*. 2007;35(Pt 5):1147–50.
49. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(1):44–84.
50. Ataya B, Tzeng E, Zuckerbraun BS. Nitrite-generated nitric oxide to protect against intimal hyperplasia formation. *Trends in cardiovascular medicine*. 2011;21(6):157–62.
51. Wu JQ, Kosten TR, Zhang XY. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2013;46:200–6.
52. Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J, Wink D. Cannabidiol and (-)-Delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(14):8268–73.
53. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373–6.
54. Endres M, Laufs U, Liao JK, Moskowitz MA. Targeting eNOS for stroke protection. *Trends in neurosciences*. 2004;27(5):283–9.

55. Virarkar M, Alappat L, Bradford PG, Awad AB. L-arginine and nitric oxide in CNS function and neurodegenerative diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2013;53(11):1157-67.
56. Reif A, Herterich S, Strobel A, Ehli AC, Saur D, Jacob CP, et al. A neuronal nitric oxide synthase (NOS-I) haplotype associated with schizophrenia modifies prefrontal cortex function. *Molecular psychiatry*. 2006;11(3):286-300.
57. Shinkai T, Ohmori O, Hori H, Nakamura J. Allelic association of the neuronal nitric oxide synthase (NOS1) gene with schizophrenia. *Molecular psychiatry*. 2002;7(6):560-3.
58. Zhang Z, Chen X, Yu P, Zhang Q, Sun X, Gu H, et al. Evidence for the contribution of NOS1 gene polymorphism (rs3782206) to prefrontal function in schizophrenia patients and healthy controls. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2015;40(6):1383-94.
59. Liu P, Jing Y, Collie ND, Dean B, Bilkey DK, Zhang H. Altered brain arginine metabolism in schizophrenia. *Translational psychiatry*. 2016;6:e871.
60. Yang YJ, Xiong JW, Zhao Y, Zhan JQ, Chen HB, Yan K, et al. Increased plasma asymmetric dimethylarginine is associated with cognitive deficits in patients with schizophrenia. *Psychiatry research*. 2016;246:480-4.
61. Bessis A, Bechade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia*. 2007;55(3):233-8.
62. Garrido-Mesa N, Zarzuelo A, Galvez J. What is behind the non-antibiotic properties of minocycline? *Pharmacological research*. 2013;67(1):18-30.
63. Dean OM, Data-Franco J, Giorlando F, Berk M. Minocycline: therapeutic potential in psychiatry. *CNS drugs*. 2012;26(5):391-401.
64. Mizoguchi Y, Kato TA, Horikawa H, Monji A. Microglial intracellular Ca(2+) signaling as a target of antipsychotic actions for the treatment of schizophrenia. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2014;8:370.
65. Zhang L, Zhao J. Profile of minocycline and its potential in the treatment of schizophrenia. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2014;10:1103-11.
66. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*. 2002;30(6):620-50.
67. Yong VW, Wells J, Giuliani F, Casha S, Power C, Metz LM. The promise of minocycline in neurology. *The Lancet Neurology*. 2004;3(12):744-51.
68. Lafionatis A, Orfanidou MA, Papadopoulou ES, Pitsikas N. Effects of the inducible nitric oxide synthase inhibitor aminoguanidine in two different rat models of schizophrenia. *Behavioural brain research*. 2016;309:14-21.
69. Yao JK, Keshavan MS. Antioxidants, redox signaling, and pathophysiology in schizophrenia: an integrative view. *Antioxidants & redox signaling*. 2011;15(7):2011-35.
70. Smith CV. *Free Radical Mechanisms of Tissue Injury*. Mary Treinen Moslen CVS, editor. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1992; 22.
71. Albayrak Y, Unsal C, Beyazyuz M, Unal A, Kuloglu M. Reduced total antioxidant level and increased oxidative stress in patients with deficit schizophrenia: a preliminary study. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2013;45:144-9.
72. Horacek J, Bubenikova-Valesova V, Kopecek M, Palenicek T, Dockery C, Mohr P, et al. Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *CNS drugs*. 2006;20(5):389-409.
73. Kennedy JL, Altar CA, Taylor DL, Degtiar I, Hornberger JC. The social and economic burden of treatment-resistant schizophrenia: a systematic literature review. *International clinical psychopharmacology*. 2014;29(2):63-76.
74. Lindefors N, Barati S, O'Connor WT. Differential effects of single and repeated ketamine administration on dopamine, serotonin and GABA transmission in rat medial prefrontal cortex. *Brain research*. 1997;759(2):205-12.
75. Frohlich J, Van Horn JD. Reviewing the ketamine model for schizophrenia. *Journal of psychopharmacology*. 2014;28(4):287-302.
76. Kandratavicius L, Balista PA, Wolf DC, Abrao J, Evora PR, Rodrigues AJ, et al. Effects of nitric oxide-related compounds in the acute ketamine animal model of schizophrenia. *BMC neuroscience*. 2015;16:9.
77. Razoux F, Garcia R, Lena I. Ketamine, at a dose that disrupts motor behavior and latent inhibition, enhances prefrontal cortex synaptic efficacy and glutamate release in the nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2007;32(3):719-27.
78. Trevlopoulou A, Touzlatzi N, Pitsikas N. The nitric oxide donor sodium nitroprusside attenuates recognition memory deficits and social withdrawal produced by the NMDA receptor antagonist ketamine and induces anxiolytic-like behaviour in rats. *Psychopharmacology*. 2016;233(6):1045-54.
79. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *The American journal of psychiatry*. 1991;148(10):1301-8.
80. Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, et al. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Archives of general psychiatry*. 1994;51(3):199-214.
81. Lahti AC, Weiler MA, Tamara Michaelidis BA, Parwani A, Tamminga CA. Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2001;25(4):455-67.
82. Malhotra AK, Pinals DA, Adler CM, Elman I, Clifton A, Pickar D, et al. Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 1997;17(3):141-50.
83. Neill JC, Barnes S, Cook S, Grayson B, Idris NF, McLean SL, et al. Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism. *Pharmacology & therapeutics*. 2010;128(3):419-32.

84. Bujas-Bobanovic M, Bird DC, Robertson HA, Dursun SM. Blockade of phencyclidine-induced effects by a nitric oxide donor. *British journal of pharmacology*. 2000;130(5):1005-12.
85. Maia-de-Oliveira JP, Lobao-Soares B, Ramalho T, Gavioli EC, Soares VP, Teixeira L, et al. Nitroprusside single-dose prevents the psychosis-like behavior induced by ketamine in rats for up to one week. *Schizophrenia research*. 2015;162(1-3):211-5.
86. Pitsikas N, Zisopoulou S, Sakellaridis N. Nitric oxide donor molsidomine attenuates psychotomimetic effects of the NMDA receptor antagonist MK-801. *Journal of neuroscience research*. 2006;84(2):299-305.
87. Yamada K, Noda Y, Hasegawa T, Komori Y, Nikai T, Sugihara H, et al. The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1996;276(2):460-6.
88. Blanchard RJ, McKittrick CR, Blanchard DC. Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical systems. *Physiology & behavior*. 2001;73(3):261-71.
89. Fone KC, Porkess MV. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2008;32(6):1087-102.
90. Weiss IC, Pryce CR, Jongen-Rejo AL, Nanz-Bahr NI, Feldon J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural brain research*. 2004;152(2):279-95.
91. Bandeira F, Lent R, Herculano-Houzel S. Changing numbers of neuronal and non-neuronal cells underlie postnatal brain growth in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009 Aug 18;106(33):14108-13.
92. Jaaro-Peled H, Ayhan Y, Pletnikov MV, Sawa A. Review of pathological hallmarks of schizophrenia: comparison of genetic models with patients and nongenetic models. *Schizophr Bull*. 2010 Mar;36(2):301-13.
93. Levitt JJ, Bobrow L, Lucia D, Srinivasan P. A selective review of volumetric and morphometric imaging in schizophrenia. *Curr Top Behav Neurosci*. 2010;4:243-81.
94. Rosa MLNM, Silva RCB, Moura-de-Carvalho FT, Brandão ML, Guimarães FS, Del Bel EA. Routine post-weaning handling of rats prevents isolation rearing-induced deficit in prepulse inhibition. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2005 Nov;38(11):1691-6.
95. Comery TA, Shah R, Greenough WT. Differential rearing alters spine density on medium-sized spiny neurons in the rat corpus striatum: evidence for association of morphological plasticity with early response gene expression. *Neurobiol Learn Mem*. 1995 May;63(3):217-9.
96. Jones GH, Hernandez TD, Kendall DA, Marsden CA, Robbins TW. Dopaminergic and serotonergic function following isolation rearing in rats: study of behavioural responses and postmortem and in vivo neurochemistry. *Pharmacol Biochem Behav*. 1992 Sep;43(1):17-35.
97. Wiberger GS, Grice HC. Long-Term Isolation Stress in Rats. *Science*. 1963;142(3591):507.
98. Bosaipo NB. Padrão de atividade locomotora e expressão de EAAC1 e GLT1 no córtex pré-frontal e entorrinal de ratos criados em isolamento a partir do desmame. [Dissertação de Mestrado]; Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (USP); 2012.
99. Ago Y, Araki R, Yano K, Kawasaki T, Chaki S, Nakazato A, et al. The selective metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist MGS0028 reverses isolation rearing-induced abnormal behaviors in mice. *Journal of pharmacological sciences*. 2012;118(2):295-8.
100. Kawasaki T, Ago Y, Yano K, Araki R, Washida Y, Onoe H, et al. Increased binding of cortical and hippocampal group II metabotropic glutamate receptors in isolation-reared mice. *Neuropharmacology*. 2011;60(2-3):397-404.

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA
Maria Luiza Nunes Mamede Rosa

mlrosa.facisb@gmail.com

Av. Loja Maçônica Revonadora 68, Número 100
Bairro Aeroporto - Barretos - Sp / Cep: 14785-002

Comparative analysis of different methods of DNA extraction from human breast tumor samples

Edenir Inez Palmero^{1,2,*}, Rhafaela Lima Causin^{1,*}, Ana Julia Aguiar de Freitas¹, Cristovam Scapulatempo Neto³, Henrique César Santejo Silveira¹, Márcia Maria Chiquitelli Marques^{1,2,4}

¹Molecular Oncology Research Center, Barretos Cancer Hospital, Barretos, SP, Brazil

²Barretos School of Health Sciences, Barretos, SP, Brazil

³Diagnóstico da América, Pathology department, Barueri, SP, Brazil

⁴Biobank of Barretos Cancer Hospital, SP, Brazil

*These authors have contributed equally to this work

RESUMO

Introdução: Uma grande parte das pesquisas realizadas em todo o mundo depende das amostras armazenadas, que em sua maioria, serão submetidas ao processo de extração do material genético para análises em biologia molecular. Essas são fontes extremamente valiosas para muitos estudos. Estes incluem a pesquisa de mutações em genes críticos para o câncer, bem como a detecção de patógenos. **Objetivo:** O objetivo desse estudo foi avaliar o impacto de diferentes métodos de extração de DNA de tecido parafinado, congelado e amostras de sangue. **Resultado:** Nós comparamos 13 métodos diferentes para a extração de DNA. Todas 63 amostras (20 tecidos parafinados, 23 tecidos congelados frozen e 20 amostras de sangue) foram obtidas de mulheres que realizavam tratamento de câncer de mama no Hospital de Câncer de Barretos. A pureza e rendimento do DNA extraído foi avaliado pelo NanoDrop® Spectrophotometer. O fragmento de DNA amplificável foi avaliado por amplificação por PCR do gene APC e todas as extrações utilizadas independentemente da amostra foram consideradas adequadas para a amplificação de fragmentos de até 311 pb. **Conclusão:** Foi verificado que o QIAamp DNA FFPE Tissue kit apresentou melhor qualidade para as amostras de FFPE e também ótimo rendimento. Em relação as amostras de tecido fresco, foi visto ótimos valores de pureza e rendimento para o QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit. As amostras de buffy coat apresentaram melhores resultados com o QIAamp DNA Mini Blood and Mini Kit. Nós concluímos que o método de extração desempenha um papel importante em relação ao desempenho em aplicações moleculares.

Palavras-chave: extração de DNA, Buffy coat, FFPE, tecido congelado.

ABSTRACT

Introduction: A large portion of researches conducted worldwide depend on stored samples that will most often be subjected to the process of extracting genetic material for molecular biology analysis. These samples archived are an extremely valuable source for retrospective genetic studies. These include mutation screening in cancer-critical genes as well as pathogen detection. **Aim:** The aimed of this study were to evaluate different methods of DNA extraction in frozen tissue, FFPE and blood. **Results:** We compared 13 different DNA extraction methods. All 63 samples (20 FFPE tissues, 23 frozen tissues and 20 blood) were obtained from women undergoing breast cancer treatment at Barretos Cancer Hospital. The purity and yield of the extracted DNA were evaluated by NanoDrop® Spectrophotometer. All extractions independently sample used were found suitable for amplification of fragments up 311 bp amplification was marginally successful. **Conclusion:** QIAamp DNA FFPE Tissue kit was found to have better quality for FFPE samples and also excellent yield. For frozen tissue samples, excellent purity and yield values were seen for QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit. Buffy coat samples showed better results with QIAamp DNA Mini Blood and Mini Kit. We conclude that the extraction method plays an important role regarding performance in molecular applications.

Keywords: DNA extraction, Buffy coat, FFPE, frozen tissue.

INTRODUCTION

Human cancer research is generally conducted on a large scale to find molecular aberrations at various levels, such as hybridization, DNA sequencing, transcriptomics and proteomics analyses¹. The initial condition to development molecular analysis is quality control of acid nucleic. However, several factors including extraction and storage methods, type of sample as well as type of the extracted nucleic acid (DNA or RNA) have a direct impact on the success of the purification².

Sample storage routinely done biobanks with research purposes. Even even though extracted DNA is recognized for remaining stables under long storages at low temperatures, some studies have shown that DNA isolated from different samples can have issues concerning quality and integrity^{3,4}. The initial step start research projects in molecular biology is the quality of biological material, and there are different types of methods that can be used to nucleic acids isolation including DNA2 and the extraction of biological material may affect posterior efficacy⁵.

Currently, efficient methods for DNA extraction have been used and reported in the literature⁶⁻⁸. Technology advancement has become possible to extract DNA and RNA several commercial kits, it is necessary to know which method should be used for certain samples types. Dietrich et al., 2013 demonstrate that Formalin-fixed, Paraffin-embedded (FFPE) tissue is the most widely used for molecular testing⁹. However, the extraction of nucleic acid from FFPE may be a hindrance to some experiments performed later, because most these samples have high levels of degradation and represents a poor substrate for molecular biology methods^{10,11}.

Several studies^{7,8} have compared different methods for genomic DNA extraction, through both manual and automated techniques. Nevertheless, the integrity of DNA extracted by each method has not been evaluated, which mostly been based on small sample sizes. Additionally, some methods used for DNA isolation may act as inhibitors for others technique, such as PCR real time and this factor may influence a reliable search result^{5,9,12}. It became necessary to investigate witch methods may offer best yield and quality for the extracted biological material. The aimed of this study were to evaluate different methods

of DNA extraction in frozen tissue, FFPE and blood.

MATERIAL AND METHODS

Study population and sample preparation

This study included a total of 63 samples (20 FFPE tissues, 23 frozen tissues and 20 blood) from breast cancer patients were provided from the Barretos Cancer Hospital between 2011 and 2012. The samples had been irreversibly anonymized and no clinical or patient-related information was available. Breast FFPE and frozen tissues samples were obtained from patients undergoing mastectomy. Five sections with 10 μ m per sample per kit were cut from each patient block on a standard microtome (Reichert- Jung Hn40; Leica Instruments, Wetzlar, Germany) from FFPE samples, placed into individual 1.5-mL microcentrifuge tubes (Eppendorf, Hamburg, Germany) and stored at 4 °C until using. Frozen tissue slides was prepare using a cryostat (CM 3050; Leica Instruments, Wetzlar, Germany) for tumor percentage verification. The cuts were performed with minimum weights of 20mg and maximum of 30mg. Venous blood samples collected in two collection tubes (4ml) with ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) from patients undergoing treatment at Barretos Cancer Hospital. Buffy coat fraction were isolated, processed and stored for -80 ° C. We do not evaluate the storage time of these materials.

DNA extraction

We compared 13 different methods for extracting DNA, in which 3 from FFPE tissue, 6 from frozen tissue and 4 from buffy coat. For FFPE samples we used five section per sample and we extracted DNA whole tumor area each block. All samples were submitted to all analyzed methods. Three methods were developed at QIAamp DNA FFPE Tissue (Qiagen, Hilden, Germany), PureLink Genomic DNA Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and Illustra Nucleon Genomic DNA Extraction Kit (GE, Healthcare Life Sciences, Little Chalfont, United Kingdom). For frozen tissue sample we used five different methods for DNA extracting, DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany), QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Ger-

many), PureLink Genomic DNA Kit, Illustra Tissue and Cells genomicPrep Mini Flow Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), AllPrep DNA/RNA Mini Kit, Illustra Triple Prep Kit (GE, Healthcare Life Sciences, Little Chalfont, United Kingdom) and AllPrep DNA/RNA Micro Kit (Qiagen, Hilden, Germany). For buffy coat DNA extraction were used four methods, QIAamp DNA Mini Blood and Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany), PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit (GE, Healthcare Life Sciences, Little Chalfont, United Kingdom) and DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany). For all DNA extraction methods, we followed the manufacturer's instructions. The purity of total DNA was evaluated by NanoDrop® Spectrophotometer v3.7 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Conventional PCR

We evaluated the presence of amplification inhibitors (compounds that impair the efficiency of the PCR reaction). This presence was assessed by amplifying the APC gene, amplifying 206 base pairs (bp) of exon 8 for samples extracted from FFPE, and 847 base pairs of exon 15B of samples extracted from frozen tissue and buffy coat. The amplification of genomic DNA for the APC promoter region was performed with the following primers: forward 5'-TTTGTGTTTGTGGGGATTG-3' and reverse 5'-CTCCAA-CACCTACCCCATTT-3'. PCR conditions consisted of an initial heating at 95°C for 15 minutes followed by 40 cycles at 95°C for 30 seconds, 60°C for 20 seconds and 72°C for 30 seconds. Subsequently, these PCR products were evaluated in a 2% agarose electrophoresis gel.

Statistical analysis

Friedman test were used to compared quality of DNA extraction methods. Wilcoxon test was performed to find out the difference between each of the kits when compared. P-values of <0.05 were considered statistically significant. All analyses were performed with SPSS for Windows, v.21.0 (IBM Corporation).

Ethics statement

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Barretos Cancer Hospital under Protocol No. 131/2008. Each research participant provided written informed consent for the publication of any data. All information that could be used to identify the study participants was kept confidential and encrypted in a secure database to ensure full confidentiality of clinical information, laboratory findings and the anonymity of each participant.

RESULTS

QIAamp DNA FFPE Tissue kits, PureLink Genomic DNA Kit and Illustra Nucleon Genomic DNA Extraction Kit that were used for DNA extraction from FFPE showed statistically significant differences (Table 1 and Figure 1A). The QIAamp DNA FFPE Tissue kit showed better quality over A260/280 absorbance, with an average of 2.1 and A260/230 absorbance with an average of 1.8. However, the Illustra Nucleon Genomic DNA Extraction Kit has shown a concentration that can be observed an average of 216 ng/μl. When compared A260/280 absorbance, we observed a significant difference between Illustra Nucleon Genomic DNA Extraction Kit and the QIAamp DNA FFPE Tissue kits. For the A260/280 absorbance we verified PureLink Genomic DNA and QIAamp DNA FFPE Tissue Kits were statistically different with better quality scores compared to PureLink Genomic DNA.

All methods used for DNA extraction from frozen tissue were significantly different for all parameters analyzed (Table 2 and Figure 1B).

QIAamp DNA Mini Blood and Mini Kit, PureLink Genomic DNA Mini Kit, Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit and DNeasy Blood & Tissue Kit that were used for DNA extraction from buffy coat showed statistically significant differences for A260/230 and the concentration (ng/μl) (table 3 and figure 1c). The QIAamp DNA Mini Blood Kit and Mini Kit demonstrated better quality for A260/280 (mean= 1.9, SD= 0.3) and A280/230 (mean= 1.8, SD= 0.2), well as the better concentration yield (mean= 274 ng/μl, SD= 205). However, we observed the comparison between Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin and QIAamp Mini Blood and Mini Kit kits

Table 1. Comparative analysis between the different method used for DNA extraction from FFPE.

	QIAamp DNA FFPE Tissue	PureLink Genomic DNA Kit	Illustra Nucleon Genomic DNA Extraction Kit	p value
A260/280	2.1 (SD= 0.1) ^a	2.3 (SD=1.3) ^b	1.8 (SD= 0.3) ^b	0.003*
A260/230	1.7 (SD= 0.3) ^b	1.1 (SD= 0.5) ^a	1.4 (SD= 0.6) ^b	<0.001*

Different letters (a and b) indicate statistical significance between the groups. *P< 0.05. The analysis was performed

Table 2. Comparative analysis between the different method used for DNA extraction from frozen tissue.

	QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit	PureLink Genomic DNA Kit	Illustra Tissue and Cells genomicPrep	All Prep DNA/RNA Mini Kit	Illustra Triple Prep Kit	All Prep DNA/RNA Micro Kit	p value
A260/280	2.1 (SD= 0.1) ^a	1.9 (SD= 0.1) ^b	1.9 (SD= 0.1) ^b	1.9 (SD= 0.1) ^b	2.1 (SD= 0.1) ^a	2.0 (SD= 0.1) ^a	<0.001*
A260/230	1.9 (SD= 0.4) ^b	2.2 (SD= 0.1) ^b	2.8 (SD= 0.4) ^a	1.3 (SD= 0.7) ^d	1.7 (SD= 0.6) ^b	1.0 (SD= 0.5) ^b	<0.001*

Different letters (a, b, c and d) indicate statistical significance between the groups. *P< 0.05. The analysis was performed with the mean values.

“Conc.= concentration”; “sd= standard deviation”.

Table 3. Comparative analysis between the different method used for DNA extraction from buffy coat.

	QIAamp DNA Mini Blood and Mini Kit	PureLink Genomic DNA Mini Kit	Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit	DNeasy Blood & Tissues Kit	p value
A260/280	1.9 (SD= 0.3)	1.8 (SD= 0.3)	1.8 (SD= 0.1)	1.9 (SD= 0.1)	0,08
A260/230	1.8 (SD= 0.2) ^a	1.2 (SD= 0.4) ^b	1.3 (SD= 0.5) ^b	1.7 (SD= 0.4) ^a	<0,001*

Different letters (a, b and c) indicate statistical significance between the groups. *P< 0.05. The analysis was performed with the mean values.

“Conc.= concentration”; “sd= standard deviation”.

did not showed significant statistical differences for A260/280, A260/230 absorbance and yields in terms of concentration (ng/ μ l). We identify a significant difference when comparing the A260/230 absorbance, concentration between PureLink Genomic DNA Mini Kit and QIAamp DNA Mini Blood and mini Kit. This same result was found in the analysis between PureLink Genomic DNA Mini Kit and DNeasy Blood & Tissue Kit. Comparison between Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit and PureLink Genomic DNA Mini Kit we observed statistical difference only for concentration(ng/ μ l). We found that the desired amplification occurred for all DNA extracts regardless of DNA extraction procedure performed. Considering the PCR efficiency of each run, it was considered there are not PCR inhibitors in the DNA extracts regardless of the method used.

We performed a comparison between 11 DNA extraction kits. We estimated time to perform the procedure and the cost per sample of each kit (Table 4). Thus, we observe that the fastest method for extracting DNA from FFPE was QIAamp DNA FFPE Tissue. However, this was the most expensive kit compared to the others used, and the PureLink Genomic DNA being the most less expensive. Considering time analysis for DNA extraction from tissue, we observed that QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit, PureLink Genomic DNA, AllPrep DNA / RNA Micro Kit, and AllPrep DNA/RNA Mini Kit were the fastest kits. PureLink Genomic DNA and Illustra Tissue and Cells GenomicPrep Mini Flow Kit were the lowest cost kits, on the other hand, it was seen that AllPrep DNA/ RNA Micro Kit and AllPrep DNA / RNA Mini Kit were the most expensive, priced approximately five times. larger than the cheapest kit for frozen tissue DNA extraction. The fastest kit for extracting DNA from blood was the PureLink Genomic DNA Mini Kit and Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit, which were also the least expensive.

DISCUSSION

DNA extraction is the first step to develop molecular analysis from human samples and contributes to research in several fields such as treatment, diagnosis and prognosis of various diseases, including cancer. Given this, DNA extraction performed by kits is a very effective tool because they are often less toxic,

have good quality, are faster, practical and reproducible. Different methods of DNA extraction from FFPE, buffy coat and frozen tissue samples have been reported in the literature demonstrating the low potential of FFPE extracted samples due to the high degradation rate of the genetic material that is conserved, as well as the PCR inhibitors that are present in all samples analyzed in this study⁹. For this reason, commercial kits can reduce the amount of PCR inhibitors of both the sample and the extraction method itself¹³ as they use a relatively smaller amount of phenol-chloroform, which is already a huge advance in technology. We also need to know if the other characteristics such as yields (concentration) and qualities (A260/230 and A260/280 ratios) that are necessary for the realization of good molecular techniques are also present in these commercial kits.

Given these factors, we observed that the samples extracted from FFPE the QIAamp DNA FFPE Tissue kit showed A260/280, A260/230 ratios and good concentration when compared to the other analyzed kits more desirable compared to other kits. AllPrep DNA / RNA Micro Kit and Illustra Triple Prep Kit which showed good results on A260/280 ratios, but no good results were found in the other variables analyzed. The QIAamp DNA Mini Blood Kit and Mini Kit showed better results for samples extracted from blood, showing better ratios, concentrations when compared to the other kits used. For frozen tissue DNA extraction kits, we can also observe that QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit presented a good A260/230 ratio, however no good results were observed in the other variables.

Given these results we can see that the DNA extraction kits manufactured by Qiagen (Hilden, Germany) showed more satisfactory results as demonstrated by Clausen et al. (2007)¹⁴, who evaluated DNA extraction by two distinct kits both from Qiagen (Hilden, Germany) and demonstrated good efficiency and quality. A study compared eleven methods for the extraction of genomic DNA from blood samples in which they found that the methods used by commercial kits and other in-house showed better results¹⁵. Huijsmans et al. 2010 found that molecular techniques for the extraction of paraffin DNA are important for the preparation of subsequent reactions, so it is necessary that this technique be performed better to reduce the obstacles to the methods that will be per-

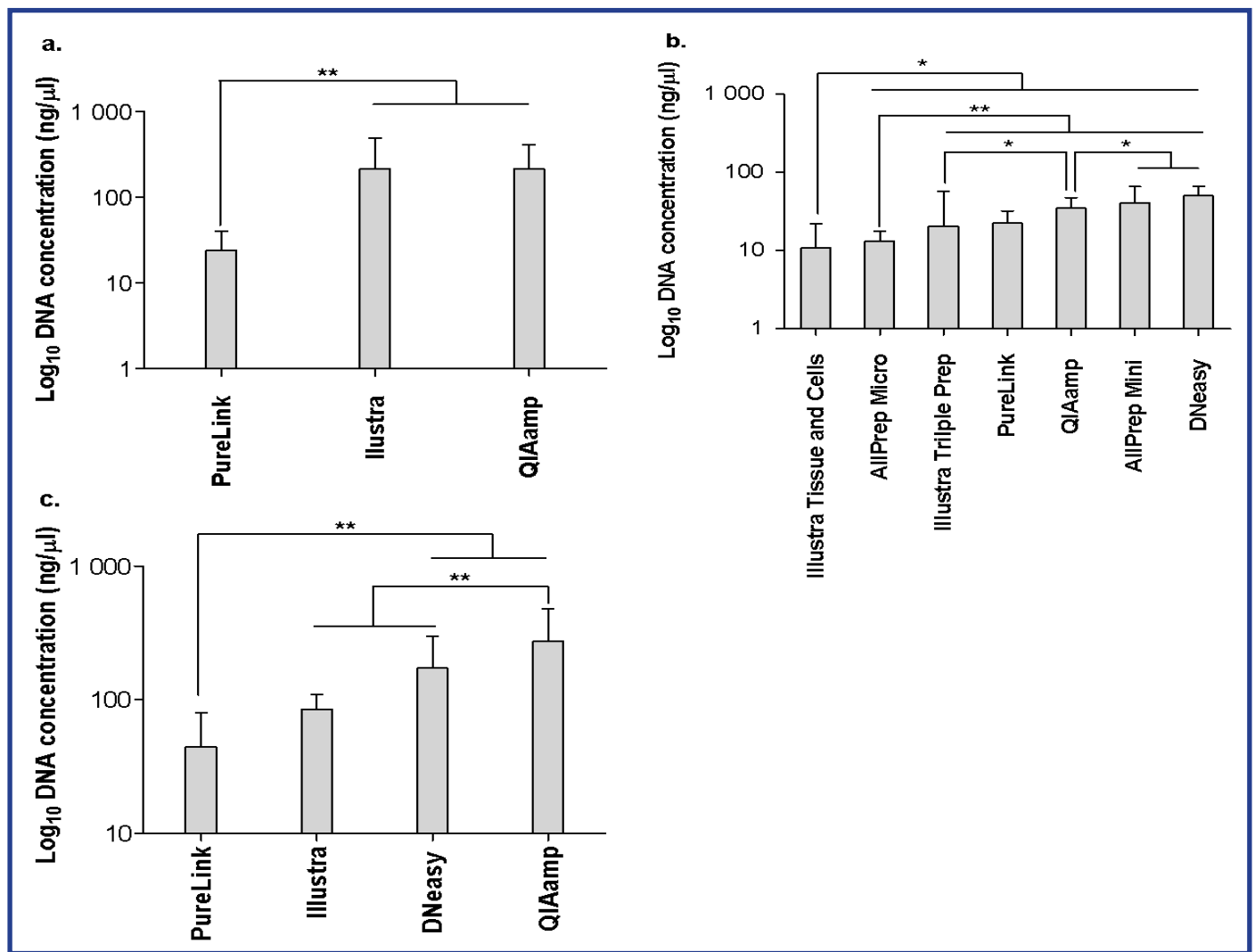


Figure 1. Bar graphs representing the DNA concentration between the different methods used for DNA extraction. (a) methods used for DNA extraction from FFPE tissue; (b) methods used for DNA extraction from frozen tissue; (c) methods used for buffy coat DNA extraction. * $P \leq 0.05$.

formed later¹⁶. Some kits for FFPE extraction, and of the four methods tested, QIAamp DNA-blood-mini-kit extraction and EasyMAG NucliSens extraction showed better performance for SNP detection in real time PCR.

Illustra Triple Prep Kit and AllPrep DNA / RNA Micro Kit were tested in the work of Mathieson and Thomas (2013) and had poorer yields than Puregene Kit, and this may have been due to the fact that extractions were performed². Simultaneous DNA and RNA in the same material, on the other hand, it was observed in this study that the kits tested in the mentioned work presented satisfactory yields. However, they were not the best when compared with the other kits used by the same samples. Another problem with the Illustra Triple Prep and AllPrep kits is that the RNA solution is centrifuged through a ligation column from previous DNA solutions, because of this

there is a risk that RNA can bind to the DNA column and therefore the experiment becomes lost². Therefore, greater care should be taken in conducting this experiment, as a lack of professional attention can lead to irreversible damage in the search for a good result.

The quality checking of the extracted DNA samples was performed by amplifying the APC gene and after performing the PCR product run on an electrophoresis gel. Thus, it can be seen that this gene remained intact in all extracted samples. For all kits, this result was similar to that found by Russ et al. (2016) who obtained a reproducible PCR product from DNA extraction by Kit12.

Table 4. Cost-per-sample evaluation and estimated duration of DNA extraction from FFPE, frozen tissue and buffy coat.

Method	Estimated process duration (24 samples)	Cost per sample (€)
FFPE		
Illustra Nucleon Genomic DNA Extraction Kit	2 days	5.48
PureLink Genomic DNA Kit	2 days	2.64
QIAamp DNA FFPE Tissue	3.5 hour	7.42
Frozen tissue		
AllPrep DNA/RNA Micro Kit	35 minutes	14.68
AllPrep DNA/RNA Mini Kit	35 minutes	10.40
DNeasy Blood & Tissue Kit	1 hour	5.30
Illustra Tissue and Cells GenomicPrep Mini Flow Kit	3 hour	3.18
Illustra Triple Prep Kit	2 hour	9.38
PureLink Genomic DNA Kit	2 days	2.64
QIAamp DNA Mini Blood and Mini Kit	40 minutes	5.58
Buffy coat		
DNeasy Blood & Tissue Kit	40 minutes	5.30
Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit	30 minutes	2.13
PureLink Genomic DNA Mini Kit	30 minutes	2.64
QIAamp DNA Mini Blood and Mini Kit	40 minutes	5.58

CONCLUSION

We conclude that FFPE Tissue kit was found to have better quality for FFPE samples and also excellent yield. For frozen tissue samples, excellent purity and yield values were seen for QIAamp DNA Mini and Blood Mini Kit. Buffy coat samples showed better results with QIAamp DNA Mini Blood and Mini Kit. All extractions independently sample used were found suitable for amplification of fragments up 206bp amplification was marginally successful. Thus, the method used for DNA isolation those samples should improve next steps in molecular biology research.

ABBREVIATIONS

DNA – Deoxyribonucleic acid

PCR – polymerase chain reaction quantitative real time

FFPE – Formalin-fixed, Paraffin-embedded bp – base pair

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like Biobank of Barretos Cancer Hospital, 1331 Rua Antenor Duarte Villela, Barretos, São Paulo, 14784-400, Brazil for managing and performing DNA extraction.

COMPETING INTEREST

The authors have no conflicts of interest to disclose.

REFERENCES

1. Grzendowski M, Riemenschneider MJ, Hawranke E, Stefanski A, Meyer HE, Reifemberger G et al. Simultaneous extraction of nucleic acids and proteins from tissue specimens by ultracentrifugation: A protocol using the high-salt protein fraction for quantitative proteome analysis. *Proteomics*. 2009; 9: 4985–4990.
2. Mathieson W, Thomas GA. Simultaneously extracting DNA, RNA, and protein using kits: is sample quantity or quality prejudiced? *Anal Biochem*. 2013; 433: 10–18.
3. Mychaleckyj JC, Farber EA, Chmielewski J, Artale J, Light LS, Bowden DW et al. Buffy coat specimens remain viable as a DNA source for highly multiplexed genome-wide genetic tests after long term storage. *J Transl Med*. 2011; 9: 91.
4. Rahila C, Narayanan MBA, Kirubaharan JJ, Kumar SGR, Selvaraj AL, Sujatha A. Influence of Storage Methods of Whole Blood Samples on DNA Integrity in Epidemiological Studies. *J Pierre Fauchard Acad India Sect*. 2018; 31: 89–92.
5. Hassani A, Khan G. A simple procedure for the extraction of DNA from long-term formalin-preserved brain tissues for the detection of EBV by PCR. *Exp Mol Pathol*. 2015; 99: 558–563.
6. Spalletti-Cernia D, Barbato S, Sorrentino R, Vallefuoco L, Rocco C, Di Costanzo P et al. Evaluation of the Automated QIASymphony SP/AS Workflow for Cytomegalovirus DNA Extraction and Amplification from Dried Blood Spots. *Intervirology*. 2017; 59: 211–216.
7. Pérez-Barrios C, Nieto-Alcolado I, Torrente M, Jiménez-Sánchez C, Calvo V, Gutierrez-Sanz L et al. Comparison of methods for circulating cell-free DNA isolation using blood from cancer patients: impact on biomarker testing. *Transl Lung Cancer Res*. 2016; 5: 665–672.
8. Kalousová M, Levová K, Kuběna AA, Jáchymová M, Franková V, Zima T. Comparison of DNA Isolation Using Salting-Out Procedure and Automated Isolation (MagNA System). *Prep Biochem Biotechnol*. 2017. doi:10.1080/10826068.2017.1303613.
9. Dietrich D, Uhl B, Sailer V, Holmes EE, Jung M, Meller S et al. Improved PCR performance using template DNA from formalin-fixed and paraffin-embedded tissues by overcoming PCR inhibition. *PloS One*. 2013; 8: e77771.
10. Blow N. Tissue preparation: Tissue issues. *Nature*. 2007; 448: 959–963.
11. Berezki L, Kis G, Bagdi E, Krenacs L. Optimization of PCR amplification for B- and T-cell clonality analysis on formalin-fixed and paraffin-embedded samples. *Pathol Oncol Res POR*. 2007; 13: 209–214.
12. Russ PK, Karhade AV, Biting AL, Doyle A, Solinas F, Wright DW et al. A Prototype Biomarker Detector Combining Biomarker Extraction and Fixed Temperature PCR. *J Lab Autom*. 2016; 21: 590–598.
13. Huggett JF, Foy CA, Benes V, Emslie K, Garson JA, Haynes R et al. The digital MIQE guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Digital PCR Experiments. *Clin Chem*. 2013; 59: 892–902.
14. Clausen FB, Krog GR, Rieneck K, Dziegiel MH. Improvement in fetal DNA extraction from maternal plasma. Evaluation of the NucliSens Magnetic Extraction system and the QIAamp DSP Virus Kit in comparison with the QIAamp DNA Blood Mini Kit. *Prenat Diagn*. 2007; 27: 6–10.
15. Psifidi A, Dovas CI, Bramis G, Lazou T, Russel CL, Arsenos G et al. Comparison of eleven methods for genomic DNA extraction suitable for large-scale whole-genome genotyping and long-term DNA banking using blood samples. *PloS One*. 2015; 10: e0115960.
16. Huijsmans CJ, Damen J, van der Linden JC, Savelkoul PH, Hermans MH. Comparative analysis of four methods to extract DNA from paraffin-embedded tissues: effect on downstream molecular applications. *BMC Res Notes*. 2010; 3: 239.

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA

Márcia Maria Chiquitelli Marques Silveira

mmcmsilveira@gmail.com

Molecular Oncology Research Center, Barretos Cancer Hospital, Rua Antenor Duarte Villela, Barretos, 1331, São Paulo, 14784-400, Brazil.



Experiência do Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos na pesquisa translacional em oncologia

Aline Oliveira da Rocha^{1,2}, Ana Caroline Neuber^{1,2}, Cássio Hoft Tostes^{1,2}, Márcia Maria Chiquitelli Marques^{1,2,3}

¹Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular, Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

²Biobanco Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

³Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos - Dr. Paulo Prata, SP, Brasil

RESUMO

Introdução: O Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos (BB-HCB) foi fundado em 2006, diante da necessidade de criar um acervo de amostras biológicas humanas normais e tumorais com finalidade de pesquisa. Biobanco é uma coleção organizada de material biológico e informações associadas, coletadas e armazenadas de acordo com padrões técnico, éticos e operacionais, sem finalidade comercial, sob responsabilidade e gestão institucional. A existência desta coleção permite desenvolvimento da pesquisa translacional, especialmente em oncologia, permite maior acesso as características moleculares de pacientes e indivíduos sem câncer. **Objetivo:** Dessa forma, este estudo teve como objetivo caracterizar o acervo de material biológico humano do BB-HCB e demonstrar a importância de um fluxo de trabalho organizado no que tange o consentimento informado adequado dos participantes, transporte, processamento, armazenamento e gerenciamento de amostras biológicas. Resultados: Atualmente, o BB-HCB é um dos maiores BioBancos da América Latina contendo um acervo de amostras humanas normais e tumorais armazenadas. Apesar dos inúmeros desafios, o acervo de amostras mostra um constante e expressivo aumento ao longo dos anos fazendo com que o BB-HCB esteja inserido em projetos e consórcios tanto nacionais quanto internacionais permitindo assim participação do HCB na pesquisa translacional em oncologia no Brasil e no mundo. **Conclusão:** A experiência do BB-HCB quanto ao consentimento livre e esclarecido bem como a coleta, processamento, armazenamento e gerenciamento de amostras biológicas mostra a importância de se estabelecer um processo organizado para que a qualidade seja garantida permitindo assim o desenvolvimento de pesquisas nacionais e internacionais na área.

Palavras-chave: Biobanco, amostras biológicas criopreservadas, oncologia, pesquisa translacional.

ABSTRACT

Introduction: Barretos Cancer Hospital Biobank (BB-HCB) was founded in 2006, due to the need to create a collection of normal and tumor human biological samples for research purposes. Biobank is an organized collection of biological material and associated information, collected and stored in accordance with technical, ethical and operational standards, not for commercial purposes, under the responsibility and institutional management. The existence of this collection allows the development of translational research, especially in oncology, ensure greater access to the molecular characteristics of patients and individuals without cancer. **Aim:** This study aimed to characterize the collection of BB-HCB and to demonstrate the importance of an organized workflow regarding the appropriate informed consent of participants, transportation, processing, storage and management of samples. **Results:** Currently BB-HCB is one of the largest BioBanks in Latin America containing a collection of stored normal human and tumor samples. Despite the numerous challenges, the collection of samples shows a constant and significant increase over the years, making BB-HCB part of both national and international projects and consortia, thus allowing HCB's participation in translational research in oncology in Brazil and all world. **Conclusion:** The experience of BB-HCB regarding free and informed consent as well as the collection, processing, storage and management of human biological samples shows the importance of establishing an organized process to ensure quality, thus allowing the development of national and international research.

Keywords: Biobank, cryopreserved biological samples, oncology, translational research.

INTRODUÇÃO

BioBanco do Hospital de Amor de Barretos

Inaugurado em 1967, Hospital de Amor de Barretos, anteriormente conhecido como Hospital de Câncer de Barretos, é uma instituição filantrópica, especializada no tratamento e na prevenção do câncer. O BioBanco do Hospital de Câncer de Barretos (BB-HCB) foi inicialmente fundado em 2006 a partir de um projeto de pesquisa com fomento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) diante da necessidade da criação de um acervo de amostras biológicas humanas¹. No ano de 2009, com início das atividades do Instituto de Ensino e Pesquisa (IEP) na unidade, iniciou-se o processo de credenciamento do BioBanco institucional junto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), com a intenção de criar um fluxo organizado de coletas de amostras biológicas para fins de pesquisa, visando o avanço científico e inovação na área de oncologia. Em 2012, o BB-HCB foi aprovado pelo Conselho Nacional de Saúde².

A implementação do BioBanco é um facilitador primordial das pesquisas tornando possível o delineamento de estudos que responderão a novas perguntas científicas. Essas estruturas de pesquisa podem estar associadas a estudos específicos ou à capacidade das instituições de armazenar amostras biológicas para pesquisas sem prazo definido, com informações associadas destinadas a pesquisadores interessados sob os aspectos médicos, biológicos e a centros de inovação tecnológica.

De acordo com a resolução 441 do Conselho Nacional de Saúde (Conselho Nacional de Saúde, 2011), BioBanco refere-se a uma coleção organizada de material biológico humano e informações associadas, coletado e armazenado para futuros projetos de pesquisa de acordo com normas técnicas éticas e operacionais^{3,4}.

Qualquer material biológico humano coletado pertence ao indivíduo cedente, mas podem ser armazenadas em dois diferentes tipos de reservatórios para fins de pesquisa, como BioBanco ou Biorrepositório³⁻⁵.

A coleção BioBanco fica sob responsabilidade institucional, sem fins comerciais, para aplicação em pesquisas científicas futuras, sob tempo de

armazenamento indeterminado^{3,4}. Por outro lado, para a coleção Biorrepositório trata-se de uma coleção de material biológico humano e informações associadas, coletadas e armazenadas ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico, previamente aprovado pelo CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) e, quando for o caso, pela CONEP⁶. No caso de Biorrepositório as amostras ficam sob responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais^{3,4}.

O uso de amostras biológicas é crucial para permitir o avanço da pesquisa translacional, levando em consideração a heterogeneidade dos indivíduos para a realização de experimentos e para novas descobertas. Poucos estudos descrevem em detalhes como se faz um fluxo de trabalho organizado.

Este artigo relata os pontos principais que guiaram a fundação do BioBanco da instituição, e os pontos determinantes para um consentimento adequado, o modo como as amostras biológicas são coletadas, transportadas, processadas, gerenciadas e estocadas no BB-HCB.

Experiência do BB-HCB: um BioBanco na área da oncologia

O BioBanco do Hospital de Amor tem como missão armazenar, processar, gerenciar e fornecer dados de amostras originárias de pacientes atendidos na instituição, visando o avanço científico na área de oncologia.

A inclusão do participante de pesquisa é feita de forma voluntária e não obrigatória. O participante pode aceitar participar ou se recusar, e pode desistir, encerrando a qualquer momento sua participação, e isto não tirará nenhum direito do seu tratamento e a assistência no hospital⁵. A anuência para participação na pesquisa é realizada de forma privada, em consultórios de atendimento, diante da manifestação da vontade do participante de pesquisa após o consentimento do mesmo e esclarecimento de suas dúvidas. É concedido ao participante tempo adequado para que ele possa refletir, consultando, se necessário, seus familiares ou outras pessoas que possam ajudá-los na tomada de decisão⁵. Os participantes de pesquisa aceitam riscos e inconveniências da pesquisa com objetivo de contribuir para o avanço do conhecimento científico. O consentimento livre

e esclarecido do participante refere-se a coleta, depósito, armazenamento e utilização de material biológico humano somente para fins de pesquisa e seu consentimento é firmado por meio da assinatura do termo de consentimento livre esclarecido (TCLE)⁵.

Os pacientes anteriormente eram convidados a participar do projeto do BioBanco no momento da abertura do prontuário junto as recepções do HCB e, quando aceitavam participar, a amostra sanguínea era coletada a posteriori, durante a primeira coleta de exames sanguíneos na instituição. Apesar da grande abrangência, muitos pacientes acabavam não realizando a coleta de sangue para BioBanco, apenas para os exames laboratoriais. Visando melhorar o fluxo de inclusões, a partir do ano de 2017 houve a necessidade da inclusão de um profissional da área dedicado exclusivamente para a aplicação do TCLE, coleta do sangue e gerenciamento das amostras até o BB-HCB. Em nossa instituição, temos um departamento chamado Núcleo de Apoio ao Pesquisador (NAP) que tem como finalidade capacitar profissionais da área de saúde para coordenar estudos no que tange a coleta organizada de material biológico e aplicação do TCLE para uso de amostra em pesquisa. Assim, uma coordenadora de estudos e uma estagiária foram contratadas exclusivamente para esta demanda junto ao BB-HCB. Essa coordenadora é responsável por gerenciar o recrutamento, capacitar a equipe, selecionar e consentir os pacientes além de coletar a amostra de sangue, com auxílio de uma estagiária. Essa mudança, melhorou significativamente a gestão dos processos e qualidade das amostras coletadas uma vez que o envio da amostra biológica acontece em menor tempo hábil ao BioBanco impactando diretamente na qualidade das amostras biológicas criopreservadas.

O recrutamento dos participantes ocorre na unidade hospitalar, na unidade de prevenção ou em unidades móveis (carreta ou van), em todas as especialidades atendidas da unidade 1 (Antenor Duarte Vilela) do HCB. Podem ser aplicados dois tipos de termos de consentimento, um deles é destinado a pacientes oncológicos ou com suspeita de câncer, o outro é direcionado a indivíduos sem câncer que estão nas unidades de prevenção. Ambos os TCLE foram aprovados pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), sendo padrão institucional para o BB-HCB^{3,5,6}. A participação na pesquisa

científica se firma por meio da assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas na última página, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pela pessoa responsável pela aplicação, uma das vias é entregue ao participante de pesquisa e a outra via é arquivada no prontuário médico ou nos arquivos do estudo⁵. Uma vez incluído esse participante autoriza a coleta, o depósito, o armazenamento e a utilização do material biológico humano para fins de pesquisas junto ao BB-HCB³. Aos sujeitos de pesquisa ou seu representante legal é oferecida a opção de escolher entre serem informados ou não sobre o resultado da pesquisa. O sujeito da pesquisa ou seu representante legal pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico valendo a desistência a partir da data de formalização, por manifestação por escrito e assinada pelo sujeito da pesquisa ou seu representante legal, cabendo-lhe a devolução ou descarte das amostras existentes^{3,5}.

Após a criação de um grande acervo de amostras na instituição, com diversos tipos de materiais biológicos, o principal foco do BioBanco da instituição atualmente é realizar o “consentimento em tríade”, que representa o consentimento do paciente, acompanhado da coleta de amostra sanguínea, seguido da coleta de tecido (normal, tumoral ou metastático), durante a realização de biópsia (se o médico julgar pertinente a coleta) ou durante um procedimento cirúrgico, do material excedente da cirurgia. São selecionados primordialmente pacientes que não tenham feito nenhum tratamento prévio à cirurgia ou à biópsia, como quimioterapia, radioterapia ou imunoterapia.

MATERIAIS

1. Coleta e transporte de material biológico

Após obter o consentimento do paciente, é realizada a coleta de aproximadamente 20ml de sangue (Vacutainer EDTA, SST; Kasvi). Os tubos são identificados com etiquetas que contém dados pessoais do paciente e código de barras. Logo após a coleta esse material é encaminhado ao BioBanco em caixas térmicas, à temperatura ambiente.

Os tecidos coletados em cirurgias passam primeiramente por um controle de qualidade,

cujo o objetivo é avaliar a porcentagem de tumor presente na amostra. Essa etapa é realizada por um técnico e um médico patologista, o primeiro fará o corte histológico do tecido e o segundo determinará a porcentagem tumoral presente na amostra. São enviadas para armazenamento somente amostras que possuam $\geq 60\%$ de células neoplásicas e até 20% de necrose, de acordo com o preconizado por regras internacionais de qualidade. Amostras de tecido provenientes de biópsias não são submetidas a esse controle de qualidade, visto que a quantidade de tecido é insuficiente para realização da técnica.

2. Processamento e armazenamento

O processamento das amostras ocorre de acordo com protocolos creditados nacional e internacionalmente que variam de acordo com o tipo de material biológico.

O sistema de armazenamento do BioBanco-HCB é por meio de criopreservação em ultra freezers -80°C , os quais são monitorados diariamente por plantonistas, encarregados de realizar o plano de contingência, transferindo as amostras para um backup, quando necessário.

3. Sistema de gerenciamento de informações

O BioBanco conta com um sistema seguro de identificação de amostras que garante o sigilo, o respeito à confidencialidade e à recuperação dos dados dos sujeitos da pesquisa, para fornecimento de informações do interesse destes ou para a obtenção de consentimento específico para utilização em nova pesquisa, quando necessário. O Hospital de Amor de Barretos irá interligar os dados do sistema de gerenciamento com as informações do prontuário eletrônico do Hospital que está em fase de implantação; e futuramente com outros BioBancos das filiais da instituição.

4. Solicitação de amostra biológicas criopreservadas junto ao BB-HCB

Para utilização das amostras biológicas o pesquisador consulta o BioBanco sobre os casos disponíveis (quantidade e tipos de casos desejados) e submete o projeto de pesquisa ao Comitê de Ética local (CEP-HCB), que avalia o trabalho de acordo com os trâmites legais da Instituição. Após aprovação do projeto de pesquisa junto ao CEP-HCB, o pesquisador

faz um cadastro do projeto junto ao BB-HCB por meio do software de gerenciamento NorayBank (Noray Bioinformatics, S.L.U). O projeto é então avaliado e são verificadas informações a respeito do número e tipo de amostras biológicas bem como a necessidade de extração de material genético (DNA) seguindo os Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) do BB-HCB. A entrega de alíquotas do material biológico é feita após a realização de um controle de qualidade quanto à pureza por meio de espectrofotômetro. A entrega do material ao pesquisador é firmada mediante assinatura de um Termo de Transferência de Material Biológico (TTMB) institucional, conforme aprovado pela CONEP (Figura 1).

RESULTADOS

Atualmente o BB-HCB é considerado um dos maiores BioBancos da América Latina, contando com um acervo de mais de 240 mil amostras biológicas. Destas, cerca de 32 mil são de indivíduos sem câncer, e as demais de pacientes. Deste total, 80% são armazenadas como BioBanco e 20% reservadas para um tipo específico de projeto, denominadas amostras de Biorrepositório (Figura 2).

As amostras de pacientes são representativas de 12 especialidades oncológicas diferentes em que existe coleta de material biológico para o BB-HCB (Figura 3).

Para realização de pesquisa usando amostras biológicas criopreservadas junto ao BB-HCB inicialmente é necessária aprovação junto ao CEP-HCB. Casos específicos de projetos de pesquisa em execução que já contam com aprovação do CEP-HCB e já são cadastrados no BB-HCB, podem necessitar avaliação durante o curso do projeto junto a um Comitê Gestor do BB-HCB.

O Hospital de Câncer de Barretos conta um Comitê de BioBanco, desde 2012 formado por 5 membros e um secretário. Compete ao comitê a regulamentação da utilização, armazenamento e manipulação de material biológico humano cuja finalidade é a pesquisa científica. Desta maneira são atribuições do Comitê BB-HCB:

a) Definir diretrizes para a liberação e distribuição de amostras biológicas alocadas nas dependências da Fundação Pio XII – Hospital de Amor de Barretos,



Figura 1. Fluxo do Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos.

sob sua guarda.

b) Acompanhar e definir periodicamente os indicadores administrativos do BioBanco.

c) Definir a liberação de novas frações ao envio das informações solicitadas por este Comitê.

d) Deliberar sobre assuntos relacionados à política institucional do BioBanco.

e) Apreciar, diretamente ou através de comissão especial, os projetos de pesquisa que visem à utilização das amostras biológicas respeitando a política de propriedade intelectual da Fundação Pio XII.

f) Fazer planejamento e estabelecer critérios de como as amostras biológicas serão disponibilizadas para os projetos aprovados. Se os itens não forem contemplados, o pesquisador ficará impedido de usar novas amostras. Seguir política institucional de acordo com um Procedimento Operacional Padrão Institucional (POP) para o fornecimento de material biológico humano.

O BB-HCB conta ainda com uma moderna e ampla infraestrutura localizado próximo ao Centro de Oncologia Molecular (CPOM) com controle de acesso de pessoal. Esta área dispõe de duas salas de freezers e um laboratório de biologia molecular para o processamento de amostras biológicas e material genético. As salas de freezer contam com monitoramento de temperatura 24 horas e estão ligadas a um gerador de energia afim de garantir as boas condições de armazenamento das amostras criopreservadas (Figura 4).

Atualmente o BB-HA possui 10 freezers -80°C e 2 freezers -20°C com capacidade que varia de 30 a 56 mil alíquotas, cada freezer. Destes, dois equipamentos são utilizados para backup. Para o processamento do material biológico o laboratório de biologia molecular está equipado com microdissector a laser (Leica), uma plataforma para extração automatizada de ácidos nucleicos

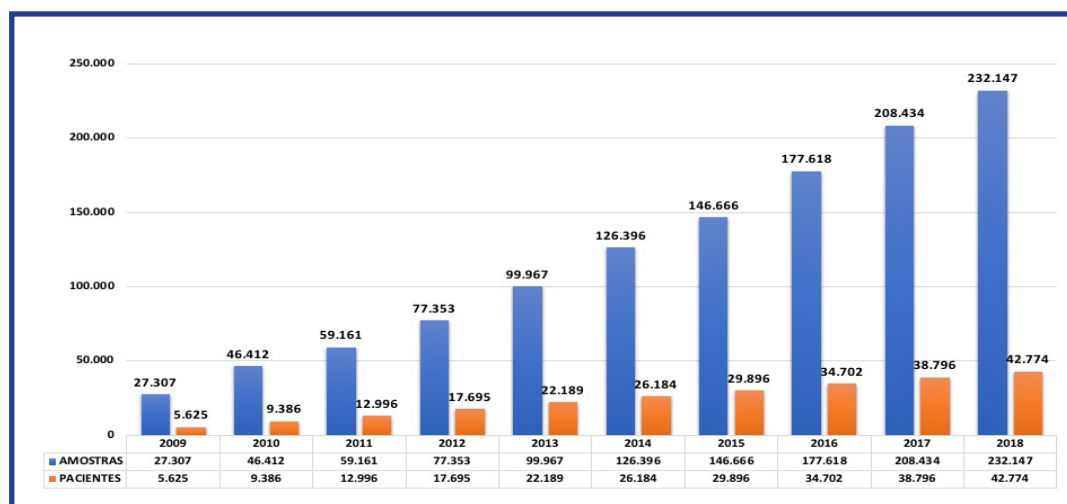


Figura 2. Série histórica de amostras criopreservadas armazenadas no BB-HCB.

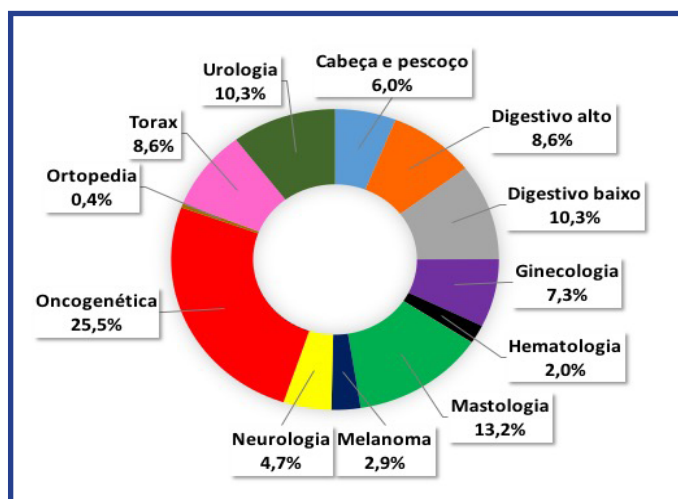


Figura 3. Relação das principais especialidades em que são coletadas amostras biológicas para o BB-HCB.



Figura 4. Imagem do laboratório de biologia molecular e da sala de freezers do BB-HCB.

(QIASYMPHONY), 2 sistemas de eletroforese microfluídica (Bioanalyzer e TapeStation), espectrofotômetro e fluoroespectrofotometro (Nanodrop e Quibit), e conta com análise de STR também, o que permite a obtenção de material com excelente qualidade e confiabilidade.

A série histórica de amostras criopreservadas no BB-HCB serviram de base para o desenvolvimento até o momento 17.083 projetos de pesquisa tanto em parcerias nacionais quanto internacionais (Figura 5). Nos últimos anos, o BB-HCB conquistou visibilidade internacional, participando de grandes projetos e consórcios em parceria com renomadas instituições internacionais, como a Rede de pesquisa Latino Americana-USA do Cancer (USLANCRN), o Cancer Genome Atlas (TCGA), o International Genome Consortium (ICGC), o NCI (National Cancer Institute) e o IARC (International Agency for research on Cancer).

DISCUSSÃO

A implementação do BB-HCB se deu diante da necessidade de se avançar na pesquisa translacional aplicada à oncologia por meio da criação de um acervo de amostras biológicas humanas criopreservadas, a serem utilizadas como matéria prima para o desenvolvimento de projetos científicos com geração de conhecimento na área de oncologia translacional, visando futuramente sua potencial aplicação em benefício da população. O BioBanco proporciona um vasto campo para desenvolvimento de pesquisas, resultando em contribuições expressivas para ações no campo de prevenção, controle, tratamento de doenças.

Promover acesso a comunidade científica a essas amostras biológicas humanas de qualidade, bem como seus dados associados, oferece suporte para investigação científica e inovação tecnológica, sendo

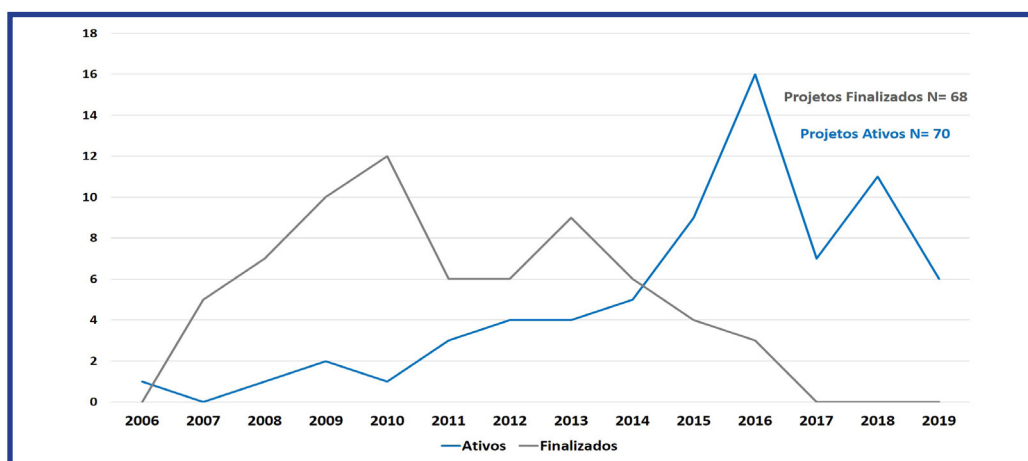


Figura 5. Relação de projetos que já utilizaram amostras biológicas armazenadas no BB-HCB.

considerado uma ferramenta crucial para medicina personalizada, cujo objetivo é o desenvolvimento de novas drogas e tratamento.

A coleta organizada de material biológico na instituição promoveu um fluxo de trabalho mais organizado, permitindo rastrear e selecionar principalmente os pacientes que tem previsão de coleta de tecido durante a biópsia ou cirurgia, permitindo assim o pareamento das amostras.

O desenvolvimento de pesquisas locais, nacionais e internacionais utilizando amostras biológicas provenientes do BioBanco do Hospital de Amor cresceu expressivamente. Esse crescimento é atribuído principalmente ao grande acervo de amostras e a variabilidade de materiais disponíveis para a realização de pesquisa, e também a grande notoriedade que o hospital alcançou nos últimos anos como centro de ensino e pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à diretoria do Hospital de Amor pela iniciativa e suporte, a equipe do BioBanco, aos pesquisadores, a equipe do núcleo de apoio ao pesquisador (NAP), a equipe de médicos da instituição e especialmente a todos os participantes que concordaram em ceder amostra biológica para pesquisa. Agradecemos ainda ao Departamento de Patologia pelo suporte na coleta junto ao Centro Cirúrgico do HCB e ao CPOM por todo o suporte científico.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Protocolo número 2005/51691-7. 2005.
2. Brasil. Protocolo de Desenvolvimento do Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos. Conselho Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. Tumores CONEP B007. Plataforma Brasil .
3. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 411 de 12 de maio de 2011. Diretrizes para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Diário Oficial da União, Brasília, DF. 2011.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.201 de 2011. Estabelece as Diretrizes Nacionais para Biorrepositório e Biobanco de Material Biológico Humano com Finalidade de Pesquisa. 2011.

5. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n. 466, de 12 de dezembro de 2012. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília, Diário Oficial da União, 12 dez. 2012. 2012.
6. Brasil. Conselho Nacional de Saúde. Norma Operacional 001 de 2013. Dispõe sobre a organização e o funcionamento do sistema CEP/CONEP. 2013.

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA

Márcia Maria Chiquitelli Marques Silveira

mmcmsilveira@gmail.com

Molecular Oncology Research Center, Barretos Cancer Hospital, Rua Antenor Duarte Villela, Barretos, 1331, São Paulo, 14784-400, Brazil.



Impacto dermatológico do uso do cigarro eletrônico - revisão da literatura

Ana Paula Trindade Moraco¹, Jessica Cambrea Joaquim Martins¹, Cristiane Botelho Miranda Cárcano^{1,2}

¹Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos - Dr. Paulo Prata, SP, Brasil

²Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

RESUMO

Introdução: Visto como uma alternativa menos nociva para aqueles que desejam cessar o tabagismo, o uso do cigarro eletrônico (e-cigarro) tem se tornado cada vez mais comum. Atualmente, a segurança desse dispositivo vem sendo questionada, uma vez que o mesmo pode causar alterações em sistemas orgânicos, incluindo manifestações dermatológicas.

Objetivo: Revisar as manifestações dermatológicas associadas ao uso do e-cigarro descritas na literatura.

Material e Métodos: Para compor essa revisão bibliográfica foram selecionados artigos científicos utilizando o banco de dados do PubMed, que avaliaram as alterações dermatológicas associadas ao e-cigarro.

Resultados: Lesões de mucosa oral como língua negra pilosa e reações liquenoides, além de dermatite de contato foram reportadas com o uso do e-cigarro. Injúrias térmicas, como queimaduras, também podem ocorrer.

Conclusão: O uso de e-cigarro têm aumentado entre adultos e adolescentes desde 2010. Efeitos adversos do e-cigarro são descritos na literatura, devido à exposição à nicotina, injúrias químicas, térmicas e explosivas, podendo levar a queimaduras. A mucosa oral e a pele podem ser afetadas pelo uso destes dispositivos. Não foram encontrados estudos clínicos controlados e randomizados. Dermatologistas devem estar atentos às dermatoses associadas a este dispositivo.

Palavras-chave: Cigarro eletrônico, língua negra pilosa, dermatite de contato, reação liquenoide.

ABSTRACT

Introduction: It's seen as a less harmful alternative for those who want to quit smoking, the use of electronic cigarette (e-cigarette) has become increasingly common. Currently, the safety of this device has been questioned, because it can cause changes in organ systems, including dermatological manifestations.

Aim: The aim of this paper is to review those dermatological manifestations associated with the use of e-cigarette described in literature. **Material:** Scientific articles were selected using PubMed database, which evaluated the dermatological changes associated with e-cigarette.

Results: Oral mucosal lesions as hairy black tongue and lichenoid reactions, beyond contact dermatitis were reported with e-cigarette use. Thermal injuries such as burns may also occur. **Conclusion:** The use of e-cigarette has increased among adults and teenagers since 2010. Adverse effects of e-cigarette are described in the literature, due to exposure to nicotine, chemical, thermal and explosive injuries, which can lead to burns. The oral mucosal and skin may be affected by the use of these devices. Dermatologists should be aware of the dermatological diseases associated with this device.

Keywords: Electronic cigarette, black hairy tongue, contact dermatitis, lichenoid reaction.

INTRODUÇÃO

Desenvolvido em 2003 na China, o cigarro eletrônico (e-cigarro) é visto como uma alternativa àqueles que desejam cessar o hábito do tabagismo¹.

Trata-se de um dispositivo composto por três componentes: um elemento de aquecimento que é alimentado por bateria, um cartucho que é substituível contendo uma solução feita de propileno glicol, glicerina, nicotina, água e um atomizador que vaporiza a solução quando aquecida². Muitos dos componentes liberados no vapor do e-cigarro são conhecidos como possíveis cancerígenos, além de metais tóxicos (cádmio, cromo, manganês e níquel), acroleína e componentes orgânicos como óxido de propileno formado a partir de propileno glicol^{3,4}.

Atualmente, existem mais de 1.000 marcas de e-cigarros e 7.764 sabores da solução, destacando a inovação da produção, que evoluiu rapidamente^{4,6}. Este dispositivo vaporiza um líquido que contém solventes, aromatizantes e nicotina^{7, 8}. Exemplos de modelos de e-cigarro podem ser observados nas Figura 1 e Figura 2 e seus detalhes na Figura 3. Por não sofrer combustão, tal mecanismo conferiu ao cigarro eletrônico uma reputação de ser menos tóxico e mais barato que o cigarro convencional, motivo pelo qual tem se tornado tão popular nos últimos anos⁹.

Estudos têm mostrado os malefícios causados pelo cigarro eletrônico, tornando sua segurança questionável. Efeitos adversos podem afetar os sistemas cardiovascular, pulmonar e imunológico. Há inúmeros relatos de alterações dermatológicas

associadas ao uso destes dispositivos^{7, 10}.

OBJETIVOS

Descrever as principais condições dermatológicas reportadas na literatura associadas ao uso dos cigarros eletrônicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado uma revisão narrativa do tema em base de dados científicas do PubMed/Medline. Foram selecionados artigos científicos relevantes, os quais abordavam sobre as alterações dermatológicas associadas ao uso do cigarro eletrônico. Os termos e/ou a combinação de termos utilizados na pesquisa bibliográfica foram: “electronic cigarette”, “e-cigarette”, “dermatological manifestations”; “impacto of electronic cigarettes”; “oral mucosal lesions”, “thermal injuries”. Não foram encontrados estudos clínicos controlados e randomizados. Foram incluídos artigos de revisão e de relato de casos, publicados em língua inglesa e escritos nos últimos 10 anos.

RESULTADOS

As manifestações dermatológicas encontradas na literatura associadas ao uso do cigarro eletrônico podem afetar a pele e a mucosa oral. Foram descritos casos associados a língua negra pilosa, reações liquenoides de mucosa oral, dermatite de contato e injúrias provocadas por lesões térmicas¹¹⁻¹⁶. A



Figura 1. Exemplo de modelo de cigarro eletrônico disponível no mercado atual.



Figura 2. Alguns modelos de cigarro eletrônico comercializados atualmente.

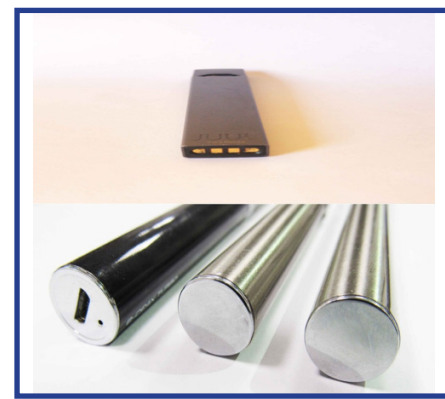


Figura 3. Detalhes dos dispositivos, cigarros eletrônicos.

Table 1. Principais manifestações dermatológicas associadas ao uso do cigarro eletrônico e estudos relacionados.

Manifestação dermatológica	Número de casos	Localização da lesão	Autores	Ano	Referência
Dermatite de contato	1	Mão dominante	Maridet et. al	2015	13
	1	Mão dominante e face	Ormerod et. al	2017	14
	1	Ambas as mãos	Shim et. al	2018	15
Língua negra pilosa	1	Dorso da língua	Farinha e Martins	2015	11
	7	Dorso da língua	Bardellini et al.	2018	18
Reação liquenoide	1	Cavidade oral	Bartram et al.	2016	12
Estomatite nicotínica	6	Cavidade oral	Bardellini et al.	2018	18
Candidíase hiperplásica	8	Cavidade oral	Bardellini et al.	2018	18
Queimaduras	2	Coxa	Colaiani et al.	2016	23
	15	Face, mãos, coxa e virilha	Brownson et al.	2016	26
	30	Coxa, mãos, genitália, face e tronco	Ramirez et al.	2017	27
	10	Membro inferior, superior, face e genitália	Jiwani et al.	2017	28
	8	Membro inferior, genitália, mãos e tronco	Maraqa et al. 2018	2018	29
	1	Mão	Satteson et al.	2018	31

Tabela 1 mostra um compilado dos principais artigos publicados sobre manifestações dermatológicas associadas ao cigarro eletrônico.

A língua negra pilosa pode ocorrer em fumantes, pacientes imunocomprometidos ou estar relacionada à má higiene oral. Trata-se de pigmentação enegrecida das papilas filiformes do dorso da língua e apesar de ser uma condição benigna e geralmente assintomática, incomoda os pacientes pelo aspecto estético (Figura 4)¹⁷.

Lesões orais sabidamente conhecidas em associação ao uso do cigarro convencional, também foram demonstradas com o uso do cigarro eletrônico. Bardellini et al. (2018) demonstraram uma maior associação de algumas lesões orais em usuários de cigarros eletrônicos, como a língua negra pilosa, a estomatite actínica e a candidíase hiperplástica, quando comparados com ex fumantes de cigarro convencional.¹⁸.

A fisiopatologia da estomatite nicotínica não é bem elucidada. Especula-se que tal lesão não ocorre

somente pela exposição a nicotina, mas também pelo contato com outros componentes químicos inclusos nos cigarros eletrônicos. Leigh et al. (2016) realizaram um estudo sobre os aromatizantes nos equipamentos eletrônicos de liberação de nicotina e relataram toxicidade principalmente com o sabor de

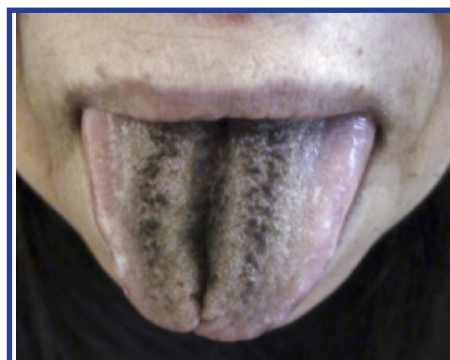


Figura 4. Paciente apresentando língua negra pilosa após poucas semanas do início do uso de cigarro eletrônico. Imagem reproduzida com permissão de Farinha H. (Farinha H, Martins V. Lingua Villosa Nigra Associated with the Use of Electronic Cigarette. Acta Med Port. 2015;28(3):393).

morango, sendo ele o mais citotóxico dentre os aromas estudados^{18, 19}. Quanto à fisiopatologia da candidíase hiperplásica, sugere-se a ocorrência de uma alteração do pH induzida pelos próprios compostos químicos presentes nos cigarros eletrônicos¹⁸.

O líquen plano, doença mucocutânea crônica do epitélio escamoso estratificado, também foi associado ao uso do cigarro eletrônico²⁰. Bartram et al. (2016) relataram um caso com história de ulceração oral durante 8 semanas, as quais foram coincidentes com o uso do e-cigarro¹². Na Figura 5 pode-se observar uma intensa reação liquenoide em lábio inferior.

Dermatites de contato também foram reportadas com o uso do cigarro eletrônico. Williams et al. constataram que níquel, ferro, sódio e alumínio estavam em concentrações maiores no vapor do cigarro eletrônico em relação ao cigarro convencional²¹. Maridet et al. (2015) reportaram o caso de uma paciente de 52 anos, usuária de cigarro eletrônico, que apresentou dermatite de contato na mão direita por 8 meses (Figura 6). Após a pausa no uso do dispositivo, a dermatite foi eliminada. Maridet et al. (2015) realizaram um teste de ponto de níquel dimetilglioxima (DMG) em 11 modelos de cigarros eletrônicos, dos quais 3 tiveram o resultado positivo¹³.

Em 2017, Ormerod et al. publicaram o caso de uma mulher de 37 anos, com história de edema facial, eritema e prurido ao longo de 6 meses. A história prévia revelou dermatite de mão e alergia auto referida a bijuterias e fivelas. Relatou possuir o hábito de fumar cigarro eletrônico e ser usuária de curlers de cílios de metal. Foram feitos testes DMG

nos produtos, os quais tiveram reação positiva. Teste de contato demonstrou uma reação fortemente positiva ao níquel. Os episódios foram suspensos com a interrupção do uso dos equipamentos¹⁴.

Em 2018, Shim et al. relataram o caso de um homem de 50 anos, com história de 2 anos de dermatite em mãos e face, que ele atribuiu ao cigarro eletrônico, do qual fazia o uso há 6 anos. Teste de contato foi fortemente positivo para níquel e o teste DMG foi positivo para o cigarro eletrônico. Com a interrupção do uso do dispositivo, a dermatite desapareceu¹⁵. A dermatite de contato foi evidenciada em três relatos na literatura devido ao elevado teor de níquel demonstrado nos equipamentos de cigarro eletrônico¹³⁻¹⁵.

Muitos cigarros eletrônicos utilizam baterias de lítio, cujas vantagens são demonstradas por serem potentes e compactas. No entanto, essas baterias apresentam um risco de chamas e de explosão causado pelo aumento da temperatura interna da bateria, mecanismo chamado de “fuga térmica”. Fatores como defeitos de fabricação, manuseio e design inadequados e uso de materiais de baixa qualidade podem contribuir para esse mecanismo. Além disso, queimaduras químicas podem ser causadas pela expulsão de conteúdo químico alcalino das baterias de lítio durante a explosão. Por essa razão, isso pode resultar em morbidade significativa entre os usuários de e-cigarro, pois podem apresentar ferimentos térmicos e também danos a propriedade pessoal²²⁻²⁴.

Uma análise realizada acerca do número de explosões e queimaduras de cigarros eletrônicos de 2015 a 2017 estimou 2.035 casos no departamento



Figura 5. Reação liquenoide associada ao uso do cigarro eletrônico.

Imagem reproduzida com permissão de Bartram A. (Bartram A, Jones N, Endersby S. Lichenoid eruption associated with use of an e-cigarette. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2016;54(4):475).



Figura 6. Dermatite de contato em mão direita de paciente relacionada ao uso de cigarro eletrônico.

Imagem reproduzida com permissão de Milpied B. (Maridet C, Atge B, Amici JM, Taieb A, Milpied B. The electronic cigarette: the new source of nickel contact allergy of the 21st century? *Contact Dermatitis*. 2015;73(1):49-50).

de emergência dos Estados Unidos, evidenciando que o número dessas lesões causadas pelo cigarro eletrônico provavelmente excede as estimativas anteriores. Devido à essa incidência, a vigilância das lesões por cigarro eletrônico deve ser aprimorada e a regulamentação dos dispositivos também é necessária²⁵.

Várias séries de casos relacionadas com as lesões térmicas advindas do cigarro eletrônico foram descritas na literatura. Colaianni et al. (2016) evidenciou o caso de três homens que apresentaram lesões traumáticas após a explosão de cigarros eletrônicos. No caso de dois indivíduos, a explosão ocorreu no bolso causando queimaduras de terceiro grau. Nesses casos, a realização de enxertos de pele foi necessária. No caso do outro paciente, o dispositivo encontrava-se na boca na hora da explosão causando lacerações faciais e fraturas dentais²³. Brownson et al. (2016) relataram o tratamento de 15 pacientes com lesões causadas pela explosão do cigarro eletrônico de outubro de 2015 até junho de 2016. Dentre as lesões observadas, 80% dos pacientes apresentavam queimaduras por chamas, 33% apresentavam queimaduras químicas e 27% lesões por explosão. As lesões levaram à perda de dentes e de tecidos moles, realização de enxertos de pele e de cuidados extensivos com feridas envolvendo cuidado multiprofissional²⁶.

Em 2017, Ramirez et al. identificaram 30 pacientes com queimaduras causadas pelo cigarro eletrônico de janeiro de 2007 a julho de 2016. A explosão foi identificada em 26 pacientes (87%) e os locais mais comumente acometidos foram as coxas, as mãos e a genitália. Ao todo, 26 pacientes necessitaram de internação hospitalar e 9 pacientes realizaram intervenção cirúrgica²⁷. Jiwani et al. relataram 10 casos de pacientes que sofreram queimaduras pela explosão de cigarro eletrônico, no período de 2014 a 2016²⁸.

Em 2018, Maraqa et al. publicaram uma série de 8 casos de pacientes que apresentaram queimaduras por explosões do cigarro eletrônico²⁹.

Outros relatos de caso de injúrias causadas pela explosão de cigarros eletrônicos também foram publicados na literatura em 2018 e 2019, mostrando a relevância atual deste tema^{30, 31}.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Por ser um dispositivo relativamente novo no mercado mundial, os malefícios do cigarro eletrônico ainda não foram totalmente estabelecidos. Há um acervo considerável na literatura que aponta para prejuízos à saúde humana, devido a exposição à nicotina, injúrias térmicas e explosivas, podendo levar a queimaduras, e injúrias químicas^{7, 10}. Inúmeros relatos de casos ressaltam a ligação do cigarro eletrônico com diversas dermatoses, principalmente língua negra pilosa, reações liquenoides de mucosa oral, candidíase oral e dermatite de contato¹¹⁻¹⁵. Inúmeros casos de queimaduras térmicas também têm sido publicados, com gravidade variável.

Uma limitação deste estudo refere-se ao fato desta revisão ter se baseado em artigos de relatos de casos e artigos de revisão. Não foram encontrados estudos clínicos controlados e randomizados.

Tendo em vista a tendência comportamental mundial, que aponta para um crescimento do uso desse do cigarro eletrônico, principalmente por adolescentes e adultos jovens, torna-se urgente o estabelecimento da segurança e da toxicidade dos componentes do cigarro eletrônico com estudos futuros para a conscientização da população. Dermatologistas devem conhecer as principais manifestações cutaneomucosas associadas ao uso do cigarro eletrônico.

REFERÊNCIAS

1. Cervellati F, Muresan XM, Sticozzi C, Gambari R, Montagner G, Forman HJ, et al. Comparative effects between electronic and cigarette smoke in human keratinocytes and epithelial lung cells. *Toxicol In Vitro*. 2014;28(5):999-1005.
2. Cai H, Wang C. Graphical review: The redox dark side of e-cigarettes; exposure to oxidants and public health concerns. *Redox Biol*. 2017;13:402-6.
3. Bhatnagar A, Whitsel LP, Ribisl KM, Bullen C, Chaloupka F, Piano MR, et al. Electronic cigarettes: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2014;130(16):1418-36.
4. Hess CA, Olmedo P, Navas-Acien A, Goessler W, Cohen JE, Rule AM. E-cigarettes as a source of toxic and potentially carcinogenic metals. *Environ Res*. 2017;152:221-5
5. Xu X, Wang X, Zhang X, Liu Y, He H, Mackay J. The debate on regulation of e-cigarettes in China. *Lancet Respir*

- Med. 2016;4(11):856-8.
6. Leone FT, Ferkol TW. Such Are the Impositions of Quackery: E-Cigarettes. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12(6):787-8.
 7. Eltorai AE, Choi AR, Eltorai AS. Impact of Electronic Cigarettes on Various Organ Systems. *Respir Care*. 2019;64(3):328-36.
 8. Grana R, Benowitz N, Glantz SA. E-cigarettes: a scientific review. *Circulation*. 2014;129(19):1972-86.
 9. Etter JF, Bullen C. Electronic cigarette: users profile, utilization, satisfaction and perceived efficacy. *Addiction*. 2011;106(11):2017-28.
 10. Visconti MJ, Ashack KA. Dermatologic manifestations associated with electronic cigarette use. *J Am Acad Dermatol*. 2019.
 11. Farinha H, Martins V. Lingua Villosa Nigra Associated with the Use of Electronic Cigarette. *Acta Med Port*. 2015;28(3):393.
 12. Bartram A, Jones N, Endersby S. Lichenoid eruption associated with use of an e-cigarette. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2016;54(4):475.
 13. Maridet C, Atge B, Amici JM, Taieb A, Milpied B. The electronic cigarette: the new source of nickel contact allergy of the 21st century? *Contact Dermatitis*. 2015;73(1):49-50.
 14. Ormerod E, Stone N. Contact allergy and electronic cigarettes (and eyelash curlers). *Clin Exp Dermatol*. 2017;42(6):682-3.
 15. Shim TN, Kosztuova T. Allergic Contact Dermatitis to Electronic Cigarette. *Dermatitis*. 2018;29(2):94-5.
 16. Jones CD, Ho W, Gunn E, Widdowson D, Bahia H. E-cigarette burn injuries: Comprehensive review and management guidelines proposal. *Burns*. 2019;45(4):763-71.
 17. Schlager E, St Claire C, Ashack K, Khachemoune A. Black Hairy Tongue: Predisposing Factors, Diagnosis, and Treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2017;18(4):563-9.
 18. Bardellini E, Amadori F, Conti G, Majorana A. Oral mucosal lesions in electronic cigarettes consumers versus former smokers. *Acta Odontol Scand*. 2018;76(3):226-8.
 19. Leigh NJ, Lawton RI, Hershberger PA, Goniewicz ML. Flavourings significantly affect inhalation toxicity of aerosol generated from electronic nicotine delivery systems (ENDS). *Tob Control*. 2016;25(Suppl 2):ii81-ii7.
 20. Gupta S, Jawanda MK. Oral Lichen Planus: An Update on Etiology, Pathogenesis, Clinical Presentation, Diagnosis and Management. *Indian J Dermatol*. 2015;60(3):222-9.
 21. Williams M, Villarreal A, Bozhilov K, Lin S, Talbot P. Metal and silicate particles including nanoparticles are present in electronic cigarette cartomizer fluid and aerosol. *PLoS One*. 2013;8(3):e57987.
 22. Brown CJ, Cheng JM. Electronic cigarettes: product characterisation and design considerations. *Tob Control*. 2014;23 Suppl 2:ii4-10.
 23. Colaianni CA, Tapias LF, Cauley R, Sheridan R, Schulz JT, Goverman J. Injuries Caused by Explosion of Electronic Cigarette Devices. *Eplasty*. 2016;16:ic9.
 24. Nicoll KJ, Rose AM, Khan MA, Quaba O, Lowrie AG. Thigh burns from exploding e-cigarette lithium ion batteries: First case series. *Burns*. 2016;42(4):e42-6.
 25. Rossheim ME, Livingston MD, Soule EK, Zeraye HA, Thombs DL. Electronic cigarette explosion and burn injuries, US Emergency Departments 2015-2017. *Tob Control*. 2019;28(4):472-4.
 26. Brownson EG, Thompson CM, Goldsberry S, Chong HJ, Friedrich JB, Pham TN, et al. Explosion Injuries from E-Cigarettes. *N Engl J Med*. 2016;375(14):1400-2.
 27. Ramirez JJ, Ridgway CA, Lee JG, Potenza BM, Sen S, Palmieri TL, et al. The Unrecognized Epidemic of Electronic Cigarette Burns. *J Burn Care Res*. 2017;38(4):220-4.
 28. Jiwani AZ, Williams JF, Rizzo JA, Chung KK, King BT, Cancio LC. Thermal injury patterns associated with electronic cigarettes. *Int J Burns Trauma*. 2017;7(1):1-5.
 29. Maraqa T, Mohamed MAT, Salib M, Morris S, Mercer L, Sachwani-Daswani GR. Too Hot for Your Pocket! Burns From E-Cigarette Lithium Battery Explosions: A Case Series. *J Burn Care Res*. 2018;39(6):1043-7.
 30. Katz MG, Russell KW. Injury from E-Cigarette Explosion. *N Engl J Med*. 2019;380(25):2460.
 31. Satteson ES, Walker NJ, Tuohy CJ, Molnar JA. Extensive Hand Thermal and Blast Injury From Electronic Cigarette Explosion: A Case Report. *Hand (N Y)*. 2017;1558944717744333.

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA**Cristiane Botelho Miranda Cárcano**

criskin.bmc@gmail.com

Hospital de Câncer de Barretos, Rua Antenor Duarte Villela, Barretos, 1331, São Paulo, 14784-400, Brasil.



Long-term catheter in pediatric oncology: how to decrease complications

Rodrigo Chaves Ribeiro^{1,2}, Alexandre Alberto Barros Duarte³, Simone de Campos Vieira Abib³

¹Barretos School of Health Sciences, Barretos, SP, Brazil

²Pediatric Surgery Oncology Department, Barretos Cancer Hospital, SP, Brazil

³Pediatric Surgery Oncology Department, Pediatric Oncology Institute - GRAACC, Federal University of São Paulo, Paulista School of Medicine, SP, Brazil

RESUMO

Introdução: Pacientes oncológicos pediátricos requerem acesso venoso central durante todo o tratamento. Desta forma, o cateter totalmente implantável (CTI) são utilizados de rotina. Em um estudo prospectivo randomizado prévio, foi observada uma taxa de complicação maior no cateter implantado na veia subclávia quando comparado a jugular. Baseado nestes resultados, foi proposta uma mudança na rotina de implantação de cateter: a veia preferencial foi a jugular e a marca do cateter foi modificada. **Objetivo:** Avaliar o impacto da mudança de rotina na sobrevida do cateter. **Materiais e Métodos:** É um estudo retrospectivo de dois períodos. No período 1, os pacientes foram randomizados para implantação do cateter na veia subclávia ou jugular, de janeiro de 2004 a abril de 2006. O período de observação foi de 50 meses até março de 2008. No período 2, a veia jugular foi a via preferida e a marca do cateter foi modificada. O período de observação foi de 50 meses até março de 2011. **Resultados:** A taxa de complicação foi maior no período 1. A taxa foi de 37,7% no período 1 e 17,3% no período 2, $p=0.013$. A análise da sobrevida do cateter demonstrou maior sobrevida no período 2 ($p=0.001$), em pacientes maiores que 5 anos ($p=0.036$), em pacientes pesando mais do que 20 Kg ($p=0.046$), implante na veia jugular ($p=0.019$) e marca de cateter ($p=0.002$). **Conclusão:** A veia de implante e a marca do cateter podem influenciar a taxa de complicações e a sobrevida dos cateteres totalmente implantáveis.

Palavras-chave: Catéteres de permanência, cateterismo venoso central, protocolos de quimioterapia combinada antineoplásica.

ABSTRACT

Introdução: Pediatric oncology patients require venous access during all treatment. Therefore, totally implantable venous access devices (TIVAD) are routinely used. In a previous randomized prospective study, it was observed a higher complication rate in TIVAD implanted in the subclavian vein, than in jugular vein. Based on these results, changes in implantation catheter routine were proposed: the preferential route was the internal jugular puncture and the catheter brand was changed. **Aim:** The aim of this study is to evaluate the impact of the routine changes on catheter's survival. **Materials and Methods:** It is a retrospective study of two different periods. On Period 1, the patients were randomized for implantation in subclavian or jugular vein; from January 2004 to April 2006. The observation period was 50 months, until March 2008. On period 2, the jugular puncture was preferred and the catheter's brand was changed. The observation period was also for 50 months, until March 2011. **Results:** Complication rate was higher in period 1. Total rate was 37,7% in period 1 and 17,3% in period 2, $p=0.013$. Catheter's survival analysis showed better survival in period 2 ($p=0.001$); patients older than 5 years of age ($p=0.036$); patients weighing more than 20 Kg ($p=0.046$); implantation in jugular vein ($p=0.019$) and catheter's brand ($p=0.002$). **Conclusions:** The site of implant and the catheter's brand can influence the result of complications of LCTD. The LCTD implanted in jugular vein appears to have lower rates of long-term complications and higher survival.

Keywords: Indwelling catheters, central venous catheterization, antineoplastic combined chemotherapy protocols.

INTRODUCTION

Pediatric oncology patients require venous access during all treatment for chemotherapy administration, blood samples and infusion of other medications. For these reasons, totally implantable venous access devices (TIVAD) are routinely used, providing comfortable and safe venous access.

The implant and the maintenance of long-term catheter is associated with several complications¹. Complications can diminish the catheter survival. Strategies for raise the catheter survival have already been analyzed. In a previous study we found that the LTCD implanted in the jugular vein have better survival than in subclavian vein². Furthermore, catheters of different brands may have different results². The hypothesis is that the change in catheter's implantation routine, with preferential implantation in the jugular vein and the modification of the catheter's brand, can influence their survival. The purpose of this study is to assess the impact of these changes on catheter survival.

METHOD

Study Design

This study is a retrospective review of a collected database created in 2004. Patients that had LTCD implanted were included. The study was developed in the Pediatric Oncology Institute GRAACC of the Federal University of São Paulo, Paulista School of Medicine (IOP-GRAACC/UNIFESP-EPM), within two periods.

On Period 1, patients were randomized for implantation in subclavian or jugular vein; from January 2004 to April 2006. Patients weighing less than 6 Kg had catheters implanted by cutdown and were excluded from the sample. The observation period was 50 months, until March 2008. The preference brand was Arrow® and lifepoint®; On Period 2, the jugular vein was preferred. LTCD were implanted in 2007 and observed for 50 months, until March 2011. During this period, the preferred catheter was Polysite®. The same surgery team did all procedures in two periods.

Age, side of implantation, oncologic disease and catheter brand were also analysed.

The surgical technique was previously

described². The procedure was done under general anaesthesia and antibiotic prophylaxis (cefalotin 50 mg/Kg). Confirmed position of the distal tip of the catheter in the superior vena cava was carried out in all cases by intraoperative fluoroscopic control. In all cases flushing of the catheter was done using a solution of heparin sodium (5000 IU of heparin in 10 mL of isotonic saline)

The demographic data was analysed with age, sex, weight, side and local of catheter's implantation, oncologic disease, and catheter brand.

The results analysis included rates of total complications and the type of complication. The considered endpoints were need for catheter removal, revision or end of treatment. Infection was defined as those that led to catheter removal.

The follow up was considered from implantation to removal or patient death.

Statistical Analysis

The chi-square test was used for categorical variables. Student's t test or Mann-Whitney test were used for quantitative variables.

The incidence of complications during follow-up was analysed by Kaplan-Meier and log rank test. The confidence intervals were 95%. Deaths were censored for statistical analysis. The used software was SPSS 19.0.

RESULTS

The demographic data of both groups of patients are summarised in Table 1. Based on the Independent t-test and Mann-Whitney test, there were no statistically significant differences between the periods with respect to age, sex, weight, diagnosis and side. Mean age was 76 months (Period 1) and 104 months (Period 2). Mean weight was 26 kg (Period 1) and 29 Kg (Period 2). The type of diagnosis was very similar, 41 % of lymphoproliferative disease in Period 1 and 40% in Period 2 (Table 1).

There were differences regarding implantation site, side and catheter brand between the two periods. The catheter's brand in the Periods was described in Table 1.

Complication rate was higher in Period 1 (37.7% in Period 1 vs 17.3% in Period 2, $p=0.013$),

Table 1. Patients characteristics - Period 1 and Period 2.

	Period 1 n=77	Period 2 n=52	p-value
Sex n (%)			
Female	30 (39.0%)	29 (55.8%)	0.060
Male	47 (61.0%)	23 (44.2%)	
Age (months) mean (SD)	76.6 (72.2)	104.4 (89.5)	0.112 ^{MW}
Weight (kg) mean (SD)	26.4 (19.8)	29.2 (22.1)	0.694 ^{MW}
Diagnosis n (%)			
Lymphoproliferative disease	32 (41.6%)	21 (40.4%)	0.982
Solid tumor	34 (44.2%)	23 (44.2%)	
CNS	11 (14.3%)	8 (15.4%)	
Implant site n (%)			
Jugular	34 (44.2%)	49 (94.2%)	<0.001
Subclavian	43 (55.8%)	3 (5.8%)	
Side n (%)			
Right	59 (76.6%)	48 (92.3%)	0.020
Left	18 (23.4%)	4 (7.7%)	
Catheter brand n (%)			
A	58 (75.3%)	-	<0.001
B	8 (10.4%)	11 (21.2%)	
C	2 (2.6%)	41 (78.8%)	
Other	9 (11.7%)	-	

CNS, central nervous system, MW, Mann Whitney's test.

Catheter brand: A - Arrow®; B - Lifeport®; C - Polysite®.

and there was no difference in mortality in both periods (31.2% vs 38.5%, $p=0.391$).

Catheter survival analysis showed differences between Periods 1 and 2, $p=0.001$ (Figure 1), patients younger than 5 years of age, $p=0.036$ (Figure 2); patients weighing less than 20 Kg, $p=0.046$; site of implantation, $p=0.019$ (Figure 3); and catheter brand, $p=0.002$ (Figure 4). No difference was found regarding diagnosis ($p=0.923$), side ($p=0.269$) or sex ($p=0.161$).

DISCUSSION

Venous access is a milestone for pediatric cancer treatment. Chemotherapy drugs have a

sclerosing effect on peripheral veins. Thus, LCTD allows safety and effectiveness in the treatment and also can bring comfort to oncologic patients.

Implantation of the long-term catheter device can be done by puncture or dissection of a central vein. The reservoir remains in the subcutaneous tissue. Radioscopy is of essential in the procedure, to check the central position of the catheter tip³.

The best site of puncture is not defined yet. However, subclavian implantation is the choice in adults⁴⁻⁷, and pediatric patients⁸.

The dissection technique for catheter implantation has lower rates of early complications⁹. The cephalic vein^{3,7,10-12} and external jugular vein can be used mainly in adults patients^{13,14} because, these

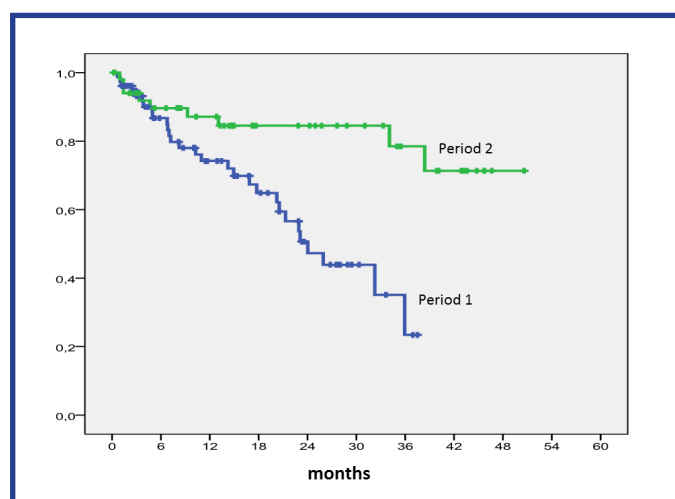


Figura 1. Catheter survival between periods 1 and 2.

veins could be very thin in children .

Although the discussion about the best technique for catheter implantation still remains in literature, one must bear in mind that the puncture can be repeated several times, whereas dissection can be performed just once in each vein.

In this series, no difference was observed when comparing the groups related to age, sex, follow-up, side, and previous chemotherapy. In a previous paper, Catheter's brand was a risk factor for catheter embolism². Thus, the catheter's brand has been modified and the internal jugular vein has become the preferred route in order to decrease complication rates . The aim of this study is to evaluate the impact of such actions in the occurrence of complications, being compared in two periods. On the second period, a lower complication rate was observed: fewer infections, no embolism and longer catheter survival.

The incidence of complications in the literature in LTCD varies from 1.8 to 25%^{4,5}. Infection is one of the most frequent complications described and it is the main cause for catheter removal. In our series, only infections, which led to catheter removal, were considered.

Patients with lymphoproliferative disease have higher infection rates than solid tumor patients¹⁵, varying from 4.8% to 8%. In the present series, the infection rate found was 16.8% in Period 1 and 15.3% in Period 2, which was higher than in the referred literature. However all the patients in this series are children, 40% of them have lymphoproliferative diseases and that could explain the discovered

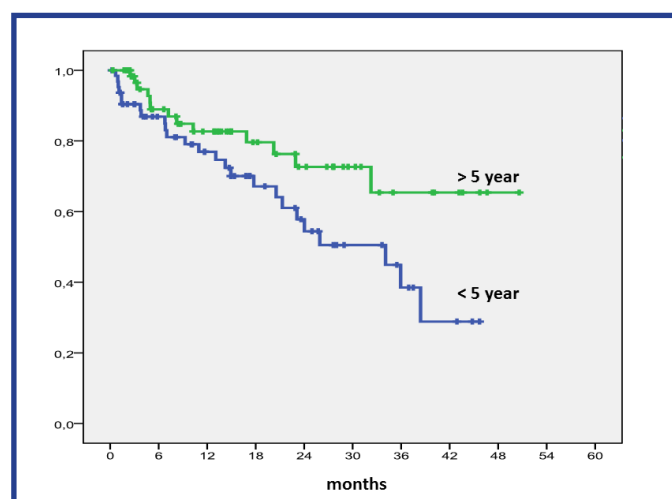


Figura 2. Catheter survival in patients younger and older than 5 years of age.

differences.

Catheter's embolism is a complication with potential serious morbidity. The catheter tends to migrate to the right cardiac chambers, but can reach the pulmonary arteries and its branches¹⁶. The exact cause of disconnection and subsequent embolization is not clearly justified in the literature. Aitken and Minton proposed that the clamping of the catheter between the clavicle and the first rib (pinch-off syndrome) could cause obstruction or rupture with catheter embolism¹⁷. This phenomenon occurs in some catheters in the subclavian vein. Sometimes it is possible to identify this compression by chest radiography (pinch-off sign), where there is narrowing of the catheter. When this signal is present, catheter removal is recommended¹⁸.

In this study, it was found a higher incidence of embolism. The catheter's brand, according to a previous study, appears to be a risk factor for embolism². We found no studies comparing this type of complication with the brand. Embolism occurred only in Period 1. We believe that subcutaneous path in the jugular's catheters is a protective factor for embolism. The change in the brand and the catheter implantation site in Period 2 eliminated this type of complication.

Catheter withdrawal is indicated at the end of treatment or if a complication occurs. The complications that lead to further withdrawal of the catheter are thrombosis and infection. The catheter's withdrawal by complication varies from 6 to 22%^{19,20}.

In our study complications that led to

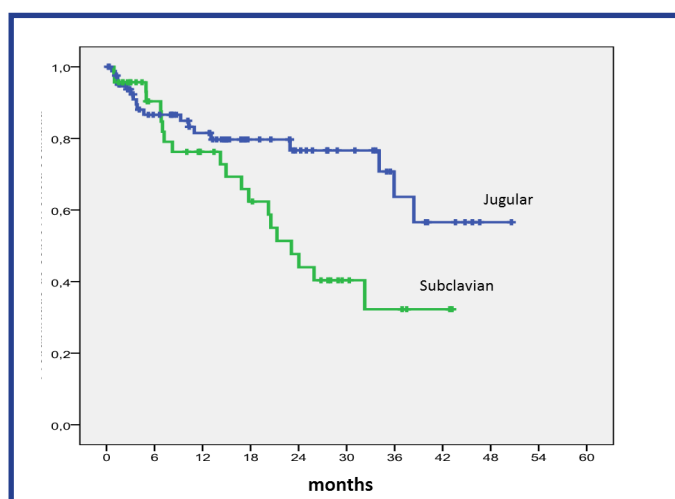


Figura 3. Comparative survival curve according to implantation site.

withdrawal occurred in 37% of patients in Period 1 and 13% in Period 2.

The catheter survival was similar to other studies²¹. However, in this study, the LCTD had a higher survival in Period 2

The need for a safe and effective venous access in pediatric oncology patients to maintain chemotherapy and infusion of intravenous medications is a milestone for good results. On the other hand, there are inherent risks in the implantation and maintenance of the catheter. In this study, we found a higher catheters' survival in Period 2, when the catheter was implanted in the jugular vein and there was also a correlation with the brand of the catheter.

CONCLUSION

In conclusion, the implant site and catheter's brand had influence in LTCD complication rate. Jugular vein catheters appear to have lower long-term complications and lasted longer than the subclavian vein catheters.

REFERENCES

1. Dillon PA, Foglia RP. Complications associated with an implantable vascular access device. *J Pediatr Surg* 2006;41(9):1582-7.
2. Ribeiro RC, Abib SCV, Aguiar AS, Schettini S T. Long-term complications in totally implantable venous access devices: Randomized study comparing subclavian and

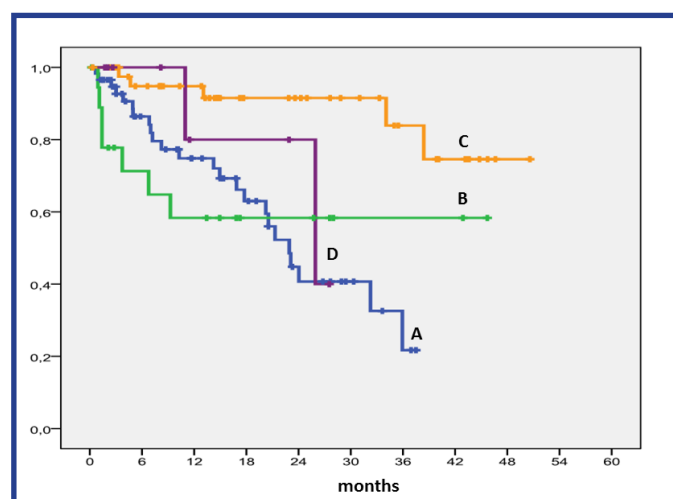


Figura 4. Comparative survival curve according to catheter brand: A - arrow® 6; B - lifeport®; C - polysite®; D - anothers.

- internal jugular vein puncture. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58: 274-277.
3. Di Carlo I, Cordio S, La Greca G, Privitera G, et al. Totally implantable venous access devices implanted surgically: a retrospective study on early and late complications. *Arch Surg* 2001; 136(9):1050-1053.
4. Biffi R, Braud F de, Orsi F, Pozzi S, et al. Totally implantable central venous access ports for long-term chemotherapy. A prospective study analyzing complications and costs of 333 devices with a minimum follow-up of 180 days. *Ann Oncol* 1998; 9(7):767-773.
5. Biffi R, Pozzi S, Agazzi A, Pace U, et al. Use of totally implantable central venous access ports for high-dose chemotherapy and peripheral blood stem cell transplantation: results of a monocentre series of 376 patients. *Ann Oncol* 2004; 15: 296-300.
6. Bothe A Jr, Piccione W, Ambrosino JJ, Benotti PN, et al. Implantable central venous access system. *Am J Surg* 1984;147(4):565-569.
7. Jablon LK, Ugolini KR, Nahmias NC. Cephalic vein cut-down verses percutaneous access: a retrospective study of complications of implantable venous access devices. *Am J Surg* 2006; 192: 63-67.
8. Golladay ES, Mollitt DL. Percutaneous placement of a venous access port in a pediatric patient population. *J Pediatr Surg* 1986;21(8):863-4.
9. Tsai HL, Liu CS, Chang JW, Wei CF, et al. Totally implantable venous access ports via the external jugular vein: safety and effectiveness for young Pediatric Patients. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008; 30(5):366-368.
10. Povoski SP. A prospective analysis of the cephalic vein

- cutdown approach for chronic indwelling central venous access in 100 consecutive cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2000; 7(7):496-502. Becton DL, Kletzel M, Golladay ES, Hatha-way G, Berry DH. An experience with an implantable port system in 66 children with cancer. *Cancer* 1988; 61: 376-378.
11. Chang HM, Hsieh CB, Hsieh HF, Chen TW, et al. An alternative technique for totally implantable central venous access devices. A retrospective study of 1311 cases. *EJSO* 2006; 32: 90-93.
12. Fitzpatrick M, Niamateli C, Feeley T, O'Beirne P, et al. A totally implanted system for long-term venous access. *Irish Med J* 1987; 80(7):209-210. Kurul S, Saip P, Aydin T. Totally implantable venous-access ports: local problems and extravasation injury. *Lancet Oncol* 2002; 3: 684-693.
13. Di Carlo, Barbagallo F, Toro A, Sofia M, Lombardo R, Cordio S. External jugular vein cutdown approach, as a useful alternative, supports the choice of the cephalic vein for totally implantable access device placement. *Ann Surg Oncol*. 2005; 12 (7): 1-4.
14. Wolosker N, Yazbek G, Nishinari K, Malavolta LC, et al. Totally implantable venous catheters for chemotherapy: experience in 500 patients. *Sao Paulo Med J* 2004; 122(4):147-151. Del Campo C, Ing VWK, Millard OH, MacDonald J. Prospective evaluation of totally implantable drug delivery system. Improved results at 4-year follow-up. *JCC* 1991; 34(3): 278-281.
15. Kock HJ, Pietsch M, Krause U, Wilke H, et al. Implantable vascular access systems: experience in 1500 patients with totally implantable central venous port systems. *World J Surg* 1998; 22: 12-16. Bow EJ, Kilpatrick MG, Clinch JJ. Totally implantable venous access ports systems for patients receiving chemotherapy for solid tissue malignancies: A randomized controlled clinical trial examining the safety, efficacy, costs, and impact on quality of life. *J Clin Oncol* 1999; 17(4):1267-1273.
16. Ribeiro RC, Monteiro ACF, Menezes QC, Schettini ST, et al. Totally implantable catheter embolism: two cases related. *Sao Paulo Med J* 2008; 126(6): 347-349.
17. Aitken DR, Minton JP. The "Pinch-Off Sign": A Warning of Impending With Permanent Subclavian Catheter. *Am J Surg* 1984; 148: 633-636.
18. Mirza B, Vanek VW, Kupensky DT. Pinch-off Syndrome: Case report and collective review of the literature. *Am Surg* 2004; 70:635-644. Araújo C, Silva JP, Antunes P, Fernandes JM, et al. A comparative study between two central veins for the introduction of totally implantable venous access devices in 1201 cancer patients. *EJSO* 2008; 34: 222-226.
19. Brothers TE, Von Moll LK, Niederhuber JE, Roberts JA, et al. Experience with subcutaneous infusion ports in three hundred patients. *Surg Gynecol Obstet* 1988; 166(4):295-301.
20. Pooter RL, Lauw FN, Bemelman WA, Bakker PJM, et al. Complications of an implantable venous access device (port-a-cathR) during intermittent continuous infusion of chemotherapy. *Eur J Cancer* 1996; 32: 2262
21. Araújo C, Silva JP, Antunes P, Fernandes JM, et al. A comparative study between two central veins for the introduction of totally implantable venous access devices in 1201 cancer patients. *EJSO* 2008; 34: 222-226.

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA

Rodrigo Chaves Ribeiro

rodrigocribeiro@uol.com.br

Av. Loja Maçonica Revonadora 68, Número 100
Bairro Aeroporto - Barretos - Sp / Cep: 14785-002



Síndrome de Sweet idiopática - relato de caso

Alexandre Soares Ferreira Júnior¹, Mariana do Carmo Silva¹, Morgana Pinheiro Maux Lessa¹,
Larissa Alessandra Bourdeth Pereira¹, Cristiane Botelho Miranda Cárcano^{1,2}

¹Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos - Dr. Paulo Prata, SP, Brasil

²Santa Casa de Misericórdia de Barretos, SP, Brasil

RESUMO

Introdução: A Síndrome de Sweet (SS) é uma dermatose neutrofilica rara, cujas causas ainda não são totalmente conhecidas, sendo de extrema importância a realização de mais estudos e pesquisas envolvendo esta doença. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é relatar o caso de um paciente que apresentou SS após quadro de infecção de vias aéreas superiores (IVAS) e fazer uma breve revisão sobre SS, descrevendo os critérios diagnósticos e o manejo terapêutico. **Relato do Caso:** Paciente do sexo masculino, 61 anos de idade, iniciou sintomas típicos de gripe com posterior aparecimento de nódulos eritematosos dolorosos nos membros superiores, optando-se por internação hospitalar e antibioticoterapia. Durante a internação, houve piora das lesões e foi aventada a hipótese diagnóstica a SS. Realizada terapia empírica com prednisona além de biópsias de pele e exames complementares para o rastreamento de neoplasias malignas. Com a melhora do quadro clínico após corticoterapia e rastreamento negativo para neoplasias, o paciente recebeu alta hospitalar e foi encaminhado para seguimento ambulatorial. **Discussão:** Habitualmente, na SS idiopática (SS clássica) as IVAS ocorrem de 1 a 3 semanas antes do aparecimento das lesões cutâneas, as quais podem ser acompanhadas de sintomas extra-cutâneos inespecíficos. As manifestações cutâneas e sistêmicas observadas no paciente, condizem com as descritas na literatura.

Palavras-chave: Síndrome de Sweet, manifestações dermatológicas, neoplasias.

ABSTRACT

Introdução: Sweet Syndrome (SS) is a rare neutrophilic dermatosis, which causes are not fully understood, being extremely important to conduct studies and researches on this disease. **Aim:** The aim of these study is to report the case of a patient with SS after upper respiratory tract infection (URTI), besides describing the diagnostic criteria and therapeutic management. **Case Report:** A 61-year-old male patient started typical influenza symptoms, with subsequent onset of painful erythematous nodules in the upper limbs, followed by hospitalization and antibiotic therapy. During hospitalization, the skin lesions got worse and Sweet Syndrome was diagnosed. Empirical therapy with prednisone was performed in addition to skin biopsies and complementary screen tests for malignant neoplasms. Due to clinical condition improvement after corticosteroid therapy and negative screening for neoplasms, the patient was discharged from hospital and was referred for outpatient follow-up. **Discussion:** Usually, in idiopathic SS (classical SS), URTI usually develops one to three weeks before the appearance of skin lesions, which are followed by nonspecific extra-cutaneous symptoms. The cutaneous and systemic manifestations observed in this patient are consistent with those previously described in the literature.

Keywords: Sweet Syndrome, dermatological manifestations, Neutrophilic diseases.

INTRODUÇÃO

A Síndrome de Sweet (SS) é a representação mais típica das dermatoses neutrofílicas febris e pode apresentar-se em 3 tipos clínicos distintos: a idiopática (ou clássica), a associada a doenças malignas e a induzida por drogas¹⁻⁵. A SS clássica pode ser associada com infecções, normalmente de vias aéreas superiores ou do trato gastrointestinal, doenças inflamatórias, gestação e vacinas²⁻⁵. Nos casos de SS associado a neoplasias, as manifestações clínicas da síndrome podem preceder, seguir ou aparecer concomitantemente com o diagnóstico da neoplasia²⁻⁵. Nos pacientes com SS associado a medicações, existe quase sempre uma relação temporal entre a administração de medicamentos e o desenvolvimento dos sintomas². A droga mais associada com a SS é o fator estimulador de colônia granulocítico²⁻⁵.

Os mecanismos biológicos responsáveis por essa doença ainda não foram totalmente elucidados^{2,3,5}. Entretanto, sua associação com doenças infecciosas, vacinas, doenças autoimunes, neoplasias e drogas sugere que o mecanismo responsável seja uma hipersensibilidade mediada por citocinas e infiltração neutrofílica^{2,3,5}.

O objetivo deste estudo é relatar o caso de um paciente que apresentou SS após quadro de infecção de vias aéreas superiores (IVAS) e fazer uma breve revisão sobre esta doença, descrevendo os critérios diagnósticos e o manejo terapêutico.

RELATO DE CASO

Paciente do sexo masculino, 61 anos de idade, iniciou quadro gripal caracterizado por tosse seca, febre não aferida, mialgia, astenia e prostração. Após uma semana, os sintomas persistiram e surgiram nódulos eritematosos dolorosos nos membros superiores. Como não obteve melhora clínica, procurou atendimento médico, sendo optado por internação hospitalar e iniciado amoxicilina e clavulanato.

Ao exame físico apresentava lesões cutâneas nos antebraços, dorso e palmas das mãos, as quais eram constituídas por pápulas e placas eritemato-edematosas. As lesões palmares eram mais pronunciadas e à palpação eram endurecidas e muito dolorosas (Figura 1).



Figura 1. Lesões apresentadas no momento da internação.

Os exames complementares da admissão demonstram leucocitose de 17.550/mm³ com predomínio de neutrófilos (64%), PCR aumentado (28,90mg/dl) e sorologias (HIV, sífilis, hepatite B e C) negativas.

Durante a internação, o paciente apresentou picos febris e evoluiu com piora do edema das lesões e extensão para o dorso superior, o pescoço e para as extremidades dos dedos das mãos.

Após 3 dias da internação, foi solicitada a avaliação da dermatologia e aventada a hipótese diagnóstica de Síndrome de Sweet. Realizadas as biópsias de pele, iniciada a terapia empírica com prednisona 1mg/kg/dia e foram solicitados exames complementares direcionados para o rastreamento de neoplasias malignas. Após a administração da prednisona, houve melhora da dor, regressão gradual das lesões cutâneas e melhora do quadro febril.

Os exames solicitados para busca de neoplasia oculta incluíram endoscopia digestiva alta, colonoscopia, Tomografia computadorizada de tórax, abdômen e pelve, CA125, CA 19.9, alfa feto proteína, CEA (do inglês, carcinoembryogenic antigen), PSA total e livre. Todos os exames estavam dentro da normalidade.

O exame anatomopatológico das biópsias de pele demonstrou a presença de área de necrose isquêmica com infiltrado inflamatório misto composto por neutrófilos, eosinófilos, histiócitos e linfócitos, além de leucocitoclasia, localizados na derme, confirmando o diagnóstico de SS (Figura 2).

Devido a melhora do quadro clínico e rastreamento negativo para neoplasias, o paciente recebeu alta hospitalar após duas semanas, com orientações sobre a retirada gradual da prednisona e foi encaminhamento para seguimento ambulatorial com a dermatologia.

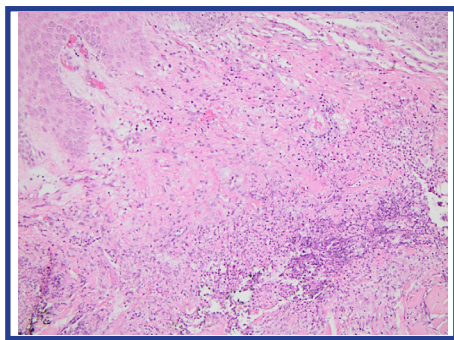


Figura 2. Exame anatomopatológico. Dermatite neutrofilica difusa (H&E, 200X).

DISCUSSÃO

O caso relata um paciente do sexo masculino, de 61 anos, com provável forma idiopática da SS, apesar dessa forma acometer principalmente mulheres de 30 a 60 anos^{2,3,6,7}. O paciente negou uso de medicamentos além dos habituais, afastando a hipótese de SS induzida por drogas, e apresentou quadro gripal 1 semana antes do aparecimento das lesões, indo de encontro a dados já publicados que mostram episódios de IVAS habitualmente 1 a 3 semanas antes do aparecimento das lesões^{3,8}.

A SS caracteriza-se por uma evolução aguda, com surgimento de febre e lesões cutâneas definidas como pápula, placa ou nódulos eritematosos^{2,3,5,9}. É comum a presença de sintomas extra-cutâneos inespecíficos, como febre, mialgia, mal-estar, cefaleia e artralgia^{2,3}. No caso reportado, o paciente apresentou a persistência de sintomas constitucionais após o quadro gripal, e lesões cutâneas condizentes

com as descritas na literatura: de início abrupto, distribuindo-se de forma assimétrica e caracterizadas por nódulos eritematosos dolorosos e edemaciados. Os critérios diagnósticos para as 3 formas de SS estão representados nas Tabelas 1 e 2.

Cerca de 21% dos casos de SS são associados a neoplasias, sendo que 85% destes estão associadas com leucemia mieloide aguda^{2,3,5}. É importante manter um acompanhamento rigoroso desses pacientes, para fazer o diagnóstico precoce de neoplasias malignas². Neste caso, o paciente foi encaminhado para continuar acompanhamento com dermatologista, pois, mesmo tendo apresentado um quadro gripal anterior ao aparecimento dos sintomas, existe a possibilidade do aparecimento de uma neoplasia futuramente.

Tendo em vista o caso relatado, foi evidenciado que o manejo dos pacientes com SS é complexo e consiste na abordagem dos fatores causais e da própria doença². É importante excluir a presença de neoplasia associada e avaliar a história de uso de fármacos prévio ao início do quadro²⁻⁵.

Nos casos de suspeita de SS, devem ser realizadas biópsias das lesões e, semelhante ao caso apresentado no qual o exame histopatológico revelou infiltrados neutrofílicos, um achado típico de SS deve ser encontrado na derme e/ou gordura subcutânea para sustentar o diagnóstico²⁻⁹.

O tratamento de primeira linha para a SS é a terapia sistêmica com prednisona ou prednisolona na dose inicial de 0,5-1,5mg/kg/dia, com redução gradual em duas a quatro semanas para evitar recorrências^{2,3,5,10}. Entretanto, a recorrência da SS

Tabela 1. Critérios de diagnóstico de Síndrome Sweet associado a neoplasias.

Critérios Maiores	
1 - Começo abrupto de placas ou nódulos eritematosos dolorosos	
2 - Histopatologia com infiltrados neutrofílicos densos sem evidência de vasculites leucocitoclástica	
Critérios Menores	
1 - Lesão cutânea antecedida por febre ou infecção	
2 - Lesão acompanhada de febre, artralgia, conjuntivite ou neoplasia subjacente	
3 - Valores laboratoriais anormais (3 ou 4): VHS > 20 mm/h; PCR elevada; > 8.000 leucócitos; > 70% de neutrófilos	
4 - Boa resposta a corticoides sistêmicos e ausência de resposta a antibióticos	

* Diagnóstico: 2 critérios maiores + pelo menos 2 critérios menores.

Tabela 2. Critérios de diagnóstico de Síndrome Sweet associado a drogas.

Critérios Diagnósticos
1 - Começo abrupto de placas ou nódulos eritematosos dolorosos
2 - Histopatologia com infiltrados neutrofílicos densos sem evidência de vasculites leucocitoclástica
3 - Febre < 38°C
4 - Relação temporal entre uso de medicação e apresentação clínica ou recidiva com readministração
5 - Desaparecimento das lesões após a interrupção da droga ou tratamento com corticosteroides sistêmicos

* Diagnóstico: todos os cinco critérios descritos.

pode ocorrer^{2,3}.

Foi relatado um caso de SS idiopática que apresentou um episódio de infecção de vias aéreas superiores previamente ao surgimento do quadro clínico. Durante a sua internação não foi identificado nenhum medicamento ou doença maligna associados e o paciente segue em acompanhamento ambulatorial regular.

REFERÊNCIAS

1. Sweet RD. An acute febrile neutrophilic dermatosis. Br J Dermatol; 1964; 76:349-56.
2. Villarreal-Villarreal CD, Ocampo-Candiani J, Villareal-Martinez A. Sweet Syndrome: A Review and Update. Actas Dermosifiliogr; 2016; 107(5); 369-378.
3. Cohen PR, Kurzrock R. Sweet's syndrome: a neutrophilic dermatosis classically associated with acute onset and fever. Clinics in Dermatology; 2000; 18(3); 265-282.
4. Clark AK, Sarcon AK, Fung MA, Konia T, Laurin EG, Sivamani RK. Malignancy-associated Sweet syndrome: acute febrile neutrophilic dermatosis associated with recurrence of metastatic cervical cancer. Dermatol Online J; 2017; 15,23(4).
5. Nelson C, Noe M, McMahon C, Gowda A, Wu B, Ashchyan H et al. Sweet syndrome in patients with and without malignancy: A retrospective analysis of 83 patients from a tertiary academic referral center. Journal of the American Academy of Dermatology. 2018;78(2):303-309.e4.
6. Marzano AV, Borghi A, Wallach D, Cugno M. A Comprehensive Review of Neutrophilic Diseases. Clinical Reviews in Allergy & Immunology. 2018;54(1):114-130.
7. Cohen PR, Kurzrock R. Sweet's syndrome revisited: a review of disease concepts. International Journal of Dermatology. 2003;42(10):761-778.
8. Cohen PR. Sweet's syndrome – a comprehensive review of an acute febrile neutrophilic dermatosis. Orphanet J of Rare Dis. 2007;2(1):34.
9. Lallas A, Tzellos TG, Papageorgiou M, Mandekou-Lefaki I. "Sweet's Syndrome Associated with Upper Respiratory Tract Streptococcal Infection: 'Wait-and-See' Strategy or Anecdotal Use of Corticosteroids?" Hippokratia; 2011; 283.
10. Scotton MF, Riviello Tondin A, Naves da Fonseca A, Torricelli de Sousa J, Roncada Haddad G, Cavariani Silveiras M, et al. Síndrome de Sweet Clássica: relato de caso típico. Diagn. Tratamento. 2016; 21(1); 20-4

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA

Cristiane Botelho Miranda Cárcano

criskin.bmc@gmail.com

Av. Loja Maçonica Revonadora 68, Número 100
Bairro Aeroporto - Barretos - SP / Cep: 14785-002



Projeto Ribeirinho: alunos de medicina fazendo a diferença no atendimento de populações negligenciadas pelo sistema de saúde

Alícia Monte Vicente Medina¹, Amanda Gonçalves da Costa¹, Arthur Arantes de Souza Camargo¹, Carolina Viza Amorim¹, Jéssica Brenda de Albuquerque Belem¹, Júlia Bressan da Costa¹, Lucas Henrique Viza Amorim¹, Thalissa Costa dos Reis¹, Nabil Júnior Abdul Razzak¹, Flavio Mavignier Cárcano¹, Wesley Justino Magnabosco¹

¹Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos - Dr. Paulo Prata, SP, Brasil

RESUMO

Introdução: A responsabilidade social deve ser desenvolvida entre os estudantes de medicina através de vivências que extrapolam o ambiente curricular e lhes ensinam sobre suas responsabilidades na sociedade, sendo componente importante na formação médica. **Relato de experiência:** O Projeto Ribeirinho é um projeto social, filantrópico, sem fins lucrativos, organizado por acadêmicos de medicina a fim de levar assistência médica primária aos ribeirinhos do Rio Jamari (RO), região de difícil acesso, carente de profissionais da saúde e de assistência em geral. Foi realizado em julho 2017 por estudantes de medicina que foram responsáveis por toda a organização e realização do mesmo. Contou também com o trabalho voluntário de dois médicos, um dentista, um estudante de odontologia e o apoio da Unidade de Saúde Vale do Rio Juary, local de concretização do projeto. As despesas foram financiadas por empresas e pessoas físicas que doaram dinheiro, medicamentos e alimentos. O Hospital de Amor de Barretos forneceu uma unidade móvel que realizou 68 mamografias e 55 Papanicolau. Foram realizados 360 atendimentos, além de ações educativas e doações de medicamentos. Apesar da desigualdade constatada atualmente quanto ao acesso aos serviços de saúde, foi possível construir a consciência cidadã e colaborar para o acesso universal e equitativo no atendimento da população, como foi realizado nesse projeto. **Conclusão:** O projeto proporcionou acesso à saúde para comunidades ribeirinhas, além de aprendizado acadêmico, de responsabilidade profissional e social, empatia e trabalho em equipe aos participantes. Também permitiu uma visão mais abrangente sobre a realidade do sistema público de saúde em regiões carentes e de difícil acesso.

Palavras-chave: Educação médica, humanização da assistência, responsabilidade social.

ABSTRACT

Introduction: Social responsibility should be developed among medical students through experiences that

go beyond the course program and teach them about their responsibilities in society, being an important component in medical education. **Experience Report:** The “Ribeirinho” (Riverside Population) Project is a social, philanthropic and non-profit project, organized by medical students to bring primary health care to the Jamari River riverside community (RO). This is an area of difficult access, lacking health professionals and general health care. It was held in July 2017 by medical students who were responsible for all organization and realization of it. It also counted on the participation of the volunteer work of two doctors, a dentist, a dental student and the support of the Jamari River Valley Health Unit, where the project took place. The expenses were funded by companies and individuals who donated money, medicines and food. Barretos Cancer Hospital provided a mobile unit that performed 68 mammograms and 55 Papanicolaou Test. There were also 360 consultations, as well as educational actions and drug donations. Despite the current inequality in terms of access to health services, it was possible to build public awareness and contribute to universal and equitable access to care for the population, as was done in this project. **Conclusion:** This project provided access to health for riverside communities, in addition to academic learning, professional and social responsibility, empathy and teamwork for participants. It also provided a broader view of the reality of the public health system in under-privileged and hard-to-reach regions.

Keywords: Medical education, humanization of assistance, social responsibility.

INTRODUÇÃO

A constituição de 1988 é um grande marco das conquistas democráticas que foram alcançadas no Brasil, sendo o Sistema Único de Saúde (SUS) uma das maiores conquistas garantidas por esta, que até hoje rege o sistema democrático brasileiro¹. O SUS foi criado com base nos princípios doutrinários de universalidade, integralidade e equidade, a fim de estabelecer a saúde como um direito de todos cidadãos brasileiros². No entanto, legalizar o acesso universal à saúde não é o mesmo que implementá-lo, especialmente em um país de dimensões continentais, onde barreiras demográficas, econômicas, sociais e culturas precisam ser vencidas. Assim, ainda convivemos com uma realidade desigual e excludente de acesso à saúde no Brasil³.

Apesar de ser de conhecimento público essa realidade, as escolas médicas do país, em geral, não preparam os graduandos para serem modificadores da mesma. Pouco é abordado sobre o papel e a responsabilidade social dos alunos e do cenário universitário como formuladores, avaliadores e executores do sistema nacional⁴. Os centros universitários têm sido pressionados para que haja uma mudança educacional, sobretudo na maneira que os mesmos se relacionam com a sociedade, sendo as novas diretrizes curriculares de extrema importância para fomentar uma mudança no processo de educação, pautando esta mudança nas necessidades da população e na responsabilidade social^{5,6}.

Neste sentido, a extensão, um dos pilares do meio universitário, tem papel fundamental na formação do discente, ao possibilitar a interação entre universidade e sociedade fora do ambiente acadêmico, articulando os problemas sociais existentes e criando debates para o enfrentamento desses, contribuindo para uma sociedade menos desigual e uma universidade mais resolutiva⁷.

O Projeto Ribeirinho surgiu da constatação da desigualdade regional de acesso à saúde que existe entre norte e sudeste por dois alunos egressos de Porto Velho – Rondônia (RO) que cursam medicina na Faculdade de Ciências da Saúde Dr. Paulo Prata (FACISB), em Barretos (SP), e que buscaram enfrentar a questão por sentirem-se responsáveis por gerar mudanças sociais nas comunidades ribeirinhas do estado de origem.

RELATO DE EXPERIÊNCIA

Como surgiu o projeto?

Este relato de experiência descreve o Projeto Ribeirinho (Figura 1) e, mais detalhadamente, a segunda edição do Projeto, que ocorreu em julho de 2017. O Projeto Ribeirinho é um projeto de impacto nacional, que foi inicialmente idealizado por dois alunos egressos de Porto Velho – RO, que, ao notarem as desigualdades que existiam entre o novo cenário da saúde em que foram inseridos (observado no interior do estado de São Paulo) e seu cenário natal (populações ribeirinhas da Amazônia), sentiram-se responsáveis pela promoção de saúde da comunidade que sempre tiveram proximidade ao usar o Rio Jamari e seus afluentes para lazer.

Em seguida, os discentes compartilharam a ideia ganhando uma rede de apoio de discentes e da Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos Dr. Paulo Prata (FACISB) em Barretos (SP), enquanto instituição de ensino e promotora social. Também buscaram a colaboração da secretaria municipal de saúde de Porto Velho-RO (SEMUSA) e a equipe de saúde da Unidade Básica de Saúde do Vale do Rio Jamari. Surgiu, assim, um projeto social, filantrópico, sem fins lucrativos, organizado por acadêmicos de medicina, para levar assistência médica primária aos ribeirinhos que vivem em comunidades próximas ao Rio Jamari (RO), denominado Projeto Ribeirinho.

A organização

Um grupo de 9 estudantes de medicina, sendo 7 deles da FACISB, um da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC Campinas) e um da Faculdades Integradas Aparício Carvalho de Porto Velho - RO (FIMCA) se reuniram semanalmente para juntos organizarem todas as questões administrativas, financeiras, burocráticas e de divulgação que envolvem um projeto de extensão nacional.

Inicialmente, os alunos decidiram o local, escolhendo a comunidade Aliança, situada a margem do Rio Jamari (Figura 2). Consiste em uma região isolada geograficamente da área urbana do município de Porto Velho, região de difícil acesso, carente de profissionais da saúde e de assistência em geral, mas que conta com a estrutura de uma unidade básica de



Figura 1. Logotipo do projeto Ribeirinho.



Figura 2. Comunidade Aliança, situada a margem do Rio Jamari, em Rondônia.

saúde denominada Unidade Básica de Saúde Vale do Jamari, que foi inaugurada no ano de 2016, ano de realização da primeira edição do projeto ribeirinho. A unidade atende não apenas a comunidade Aliança, formada por aproximadamente 300 moradores, como outras comunidades ribeirinhas ao seu redor e está a uma distância por rio superior a dez quilômetros a muitas vilas ribeirinhas.

Em virtude da dificuldade de acesso a este local, tanto para os moradores da região quanto para os profissionais de saúde, a Secretaria Municipal de Saúde de Porto Velho (SEMUSA) por possuir dificuldades de acolher essas pessoas e fornecer o atendimento em saúde, apoiou a realização do Projeto na região.

Após estipulado o local, os alunos optaram por levar assistência primária em saúde e exames preventivos para o local, convidando, para isso, dois médicos – um médico generalista e uma pediatra, e, na edição de 2017, optou-se por convidar também um dentista e um estudante de odontologia a participarem do projeto de maneira voluntária. Além disso, os alunos firmaram uma parceria com o Hospital de Amor de Barretos que se dispôs a levar a unidade móvel de rastreamento de câncer feminino até o local na mesma data de realização do projeto, oferecendo exames de mamografia e Papanicolau para as mulheres das comunidades locais.

O passo seguinte foi arrecadar fundos financeiros para tornar o projeto viável. Nesse sentido, é importante destacar o impacto da divulgação em mídias digitais, programas de rádio, TV e divulgação direta dos envolvidos na organização (Figura 3). O Projeto Ribeirinho contou com doações de instituições,

empresas e de pessoas físicas tanto de Barretos – SP, como de Porto Velho – RO, os quais foram tocados pelo projeto ou por seus idealizadores. Além disso, foi criada uma plataforma virtual de financiamento no site catarse.me com abertura para doações nacionais. Arrecadou-se também fundos através de rifas e da venda de camisetas do projeto.

Toda a parte de logística foi realizada pelos estudantes, desde escolha de datas, acessibilidade, transporte, acomodação, alimentação, medicações a serem levadas, estruturação da unidade para receber a unidade móvel, segurança da equipe, entre outras questões que um projeto nacional de impacto local envolve.

O transporte da equipe até a Porto Velho – RO foi feito através de avião. Os profissionais convidados tiveram suas passagens aéreas arcadas pelo projeto, enquanto cada estudante arcou com o custo individual de sua passagem aérea. Já o transporte de Porto Velho até a unidade foi realizado por meio de carros, tendo em vista que o projeto foi realizado em Julho, época da seca na região, quando é possível o acesso por terra ao local, inclusive pela unidade móvel de prevenção, o que não seria possível em outras épocas do ano, quando grande parte do local fica alagado. Durante o projeto, o transporte da unidade ao alojamento, e vice-versa, foi feito por meio de barco cedido por uma empresa local (Figura 4), visto que os voluntários ficaram alojados em uma casa flutuante cedida de maneira gratuita pela família de um dos idealizadores do projeto.

Para garantir a segurança de toda a equipe, o projeto fez parceria com a Casa Militar de Porto Velho que disponibilizou dois policiais militares para



Figura 3. Material de divulgação do projeto nas redes sociais.



Figura 4. Transporte local da equipe entre o alojamento e o local de atendimento.

acompanharem a realização do Projeto e garantirem a segurança de todos, os quais permaneceram disfarçados, a fim de não inibir os pacientes, atrapalhando o vínculo médico-paciente. O projeto contou ainda com o apoio de uma cozinheira que ficou responsável pela alimentação da equipe e um piloto para o barco.

As medicações disponibilizadas foram doadas por discentes e docentes da FACISB e também por aquelas disponíveis na unidade de saúde do local do projeto. Os equipamentos foram emprestados pelos profissionais participantes e também pela FACISB e pelo Hospital de Amor de Barretos. Por último, após toda a estruturação do Projeto Ribeirinho, houve a divulgação para a comunidade através de faixas, cartazes e da busca ativa das agentes de saúde da Unidade de Saúde do Vale do Rio Jamari, a fim de conseguir a adesão da comunidade local ao mutirão de atendimento.

O projeto

A primeira edição do Ribeirinho aconteceu em julho de 2016, contando com a participação de 17 voluntários, sendo realizados 205 atendimentos (118 avaliações clínicas e 87 pediátricas). Na primeira edição, não foram realizados atendimentos odontológicos e exames preventivos.

A segunda edição do Projeto Ribeirinho aconteceu de 08 a 15 de julho de 2017, a qual contou com uma equipe de 22 voluntários (Figura 5). Os atendimentos foram realizados entre os dias 10 e 14 de julho de 2017, sendo atendidos 359 pacientes, dos quais 92 atendimentos

clínicos, 87 pediátricos, 57 odontológicos, 68 mamografias e 55 coletas de Papanicolaou.

Um fato que chamou a atenção dos participantes da segunda edição do projeto foi o fato de que, em 2017, a Unidade de Saúde do Vale do Rio Jamari foi contemplada pelo programa nacional “Mais Médicos” e passou a contar com assistência médica 3 vezes na semana na comunidade. Por isso, em 2017 a maioria dos pacientes atendidos pelo projeto relataram que faziam acompanhamento médico na Unidade e, em geral, estavam satisfeitos com a assistência em saúde que recebiam.

Os acadêmicos

Além da parte de planejamento e execução do projeto, que já foi mencionada anteriormente, os acadêmicos que participaram do projeto tinham funções delimitadas dentro da unidade de saúde: 4 estudantes acompanhavam os médicos e 1 auxiliava na farmácia, rodiziando as funções no decorrer dos dias. Outros 2 discentes auxiliaram na unidade móvel, ficando fixos nessa função, pois foram previamente capacitados para auxiliar na realização da mamografia e também participavam de um estudo sobre as barreiras relacionadas com a realização de mamografia por parte das populações ribeirinhas da Amazônia, sendo previamente habilitados a explicar sobre o projeto, a aplicar o termo de consentimento e a aplicar os questionários.

Os alunos que acompanhavam os médicos colhiam a anamnese do paciente e acompanhavam o exame físico e a consulta dos mesmos (Figura



Figura 5. Equipe participante da 2ª edição do Projeto Ribeirinho.



Figura 6. Acadêmico durante atendimento.

6). Após, havia uma discussão sobre o caso em questão e os achados de exame físico, bem como diagnósticos diferenciais e a melhor conduta. O aluno que ficava na farmácia era orientado pelos médicos sobre a prescrição, a função do medicamento, dose e efeitos colaterais das medicações dispensadas.

DISCUSSÃO

Como abordado anteriormente, na constituição de 1988, foi criado o sistema único de saúde (SUS) no Brasil¹, cujas bases eram os princípios doutrinários de universalidade, integralidade e equidade, a fim de estabelecer a saúde como um direito de todos cidadãos brasileiros, respeitando a singularidade de cada indivíduo, as diferenças de complexidade dos serviços prestados, e as necessidades de grupos e minorias, buscando formas de diminuir as disparidades regionais e sociais que são tão contrastantes no país, entendendo a saúde como uma questão social e não apenas biológica².

No entanto, apesar desses princípios terem sido legalizados, ainda enfrentamos a dificuldade na implementação do acesso universal à saúde em um país de dimensões continentais como o Brasil, onde, além das barreiras demográficas, enfrentamos desigualdades econômicas, sociais e culturas entre as diversas regiões da nação. Assim, ainda convivemos com uma realidade desigual e excludente de acesso à saúde³, especialmente entre as minorias: população LGBT, negros, quilombolas, indígenas, moradores de ruas, ribeirinhos, entre outros. Salienta-se, assim, a necessidade de políticas públicas e ações sociais voltadas para garantia de direitos dessas populações que acabam sendo negligenciadas pelos poderes público e privado nas

instâncias federais, estaduais e municipais.

Apesar da realidade desigual e excludente da saúde no Brasil ser de conhecimento público, as instituições de formação em saúde, em sua maior parte, não preparam os futuros profissionais para serem modificadores dessa realidade, pouco abordando o papel e a responsabilidade social destes como formuladores, avaliadores e executores do sistema nacional. O modelo educacional atual é muito criticado por não se basear nas reais necessidades de saúde, propagando o domínio técnico-científico, que ignora aspectos estruturantes, como assuntos ligados à gestão, planejamento e saúde coletiva⁴. Assim, está ocorrendo uma recomendação para que os centros universitários alterem seu sistema educacional (através das novas diretrizes curriculares) sobretudo na maneira que os mesmos se relacionam com a sociedade, tentando, assim, fomentar uma mudança no processo de educação, pautada nas necessidades da população, na responsabilidade social e compromisso com a defesa da cidadania e da dignidade humana, estimulando centros universitários e seus alunos a serem promotores da saúde integral do ser humano^{5,6}.

A Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos, Dr. Paulo Prata (FACISB) é uma faculdade que abrange as novas diretrizes curriculares de saúde e busca por um modelo de ensino mais amplo, a fim de formar profissionais humanizados, que possuam, além do domínio técnico-científico, responsabilidade social. Para isso, além de inserir debates à cerca do tema no âmbito de ensino, apoia diversos projetos de extensão universitária, tendo em vista que esta ação possibilita a interação entre universidade e sociedade, gerando conhecimento para população leiga e acadêmicos, bem como troca de valores entre

os mesmos. Através da extensão é possível articular os problemas sociais existentes e criar debates para o enfrentamento desses, contribuindo para uma sociedade menos desigual e uma universidade mais resolutiva, capaz de interpretar e transformar a sociedade através da atitude humana⁷.

Em geral, esses projetos abrangem a população em que a universidade se insere, gerando um impacto mais local. No entanto, nada impede que ela seja realizada em esferas estaduais ou federais. O local e comunidade aos quais a extensão se destina contribui muito para a diversidade dos projetos que afloram dentro da cena universitária⁸, visto que a desigualdade regional é uma realidade nacional, decorrente de um processo de desenvolvimento marcado por desigualdades históricas que impactam diretamente na distribuição de renda, oferta de emprego, moradia, educação, serviços prestados e, conseqüentemente, na saúde⁹.

O Projeto Ribeirinho surgiu da constatação da desigualdade no acesso à saúde que existe entre norte e sudeste por dois alunos egressos de Porto Velo – Rondônia (RO) que cursam medicina na FACISB (localizada em Barretos – SP). Assim, eles buscaram enfrentar esta questão, por sentirem-se responsáveis por gerar mudanças sociais nas comunidades ribeirinhas do estado de origem, ultrapassando assim o limite da ciência técnica, e entendendo as dimensões político-social-humana dentro de sua formação¹⁰.

Para tal, foi escolhida a população ribeirinha, por essa encontrar-se na região amazônica, muitas vezes longe dos grandes centros, e em locais difícil acesso. Além das barreiras demográficas, esses cidadãos contam ainda com as barreiras socioeconômicas, educacionais e culturais que tornam o acesso e a inclusão à saúde ainda mais complicados¹¹. Assim, foi possível proporcionar inclusão e acesso à saúde numa esfera nacional por parte desses estudantes.

Esse projeto proveu, assim, acesso em saúde para comunidades locais e estimulou os princípios do SUS: universalidade, integralidade e equidade, gerando, assim, um impacto positivo sobre a comunidade que se inseriu e modificando a realidade local de acesso à saúde. O que o projeto alcançou foi muito além da expectativa de levar acesso à essa comunidade por um período limitado de tempo. Ao mostrar a falta de acesso à saúde que exista na comunidade da Aliança e região, levou questionamentos à secretaria

de saúde local que buscou enfrentamentos frente ao problema, buscando maneiras alternativas de tornar o acesso à saúde mais equitativo para essa população, até então negligenciada. Essa situação levou à implantação do programa “Mais médicos” nessa região, proporcionando que essa comunidade tivesse um acesso contínuo à saúde por longo prazo.

Além da comunidade, o alcance do projeto entre os discentes e os profissionais envolvidos também foi de extrema significância. O Projeto contribui e muito para o aprendizado de diversas áreas extracurriculares entre elas organização financeira, pontualidade, assiduidade, entre outras habilidades que são exigidas para realização de um projeto. Além disso, foi fundamental para o aprendizado individual e coletivo de responsabilidade social, cidadania, empatia, dignidade e gratidão.

Academicamente o projeto também gerou um impacto positivo. Os alunos tiveram oportunidade de treinar suas habilidades médicas por meio da prática de anamneses, bem como de ver e discutir casos de doenças, especialmente das doenças endêmicas que nem sempre podem ser observados nos estados que cursam a graduação, como é o caso da malária, que apesar de não ter sido realizado nenhum diagnóstico da doença ao longo do projeto, nas duas edições houveram casos suspeitos e os alunos puderam acompanhar o exame da gota espessa feito na própria unidade por um profissional capacitado.

Os acadêmicos se beneficiaram, sobretudo, pela oportunidade de vivenciar uma experiência de saúde fora da realidade que estão inseridos, observando como as diferenças sociais, culturais, econômicas, demográficas, profissionais e educacionais impactam a vida do paciente e sua saúde, e qual a importância para o profissional de saúde de estar preparado e em consonância com o sistema de saúde para acolher, criar vínculos e promover a saúde de maneira empática, compreensível e acessível para o paciente.

Por fim, segundo a filósofa política Hannah Arendt,

“A educação é o ponto em que decidimos se amamos o mundo obstante para assumirmos a responsabilidade por ele e, com tal gesto, salvá-lo da ruína que seria inevitável não fosse a renovação e a vinda de novos e dos jovens”¹².

Nesse sentido, pode-se dizer que o Projeto

Ribeirinho contribuiu de maneira inigualável ao processo de formação e educação dos jovens acadêmicos envolvidos em sua realização. Além de ter levado 564 atendimentos para uma população até então “invisível aos olhos do Estado” e desencadear a implantação de um meio assistência de saúde permanente para a região.

Como essa ação foi considerada um grande sucesso pelos participantes, a diretoria do projeto decidiu que era necessário mudar a ação de local, tendo em vista que a comunidade Aliança passou a ter acesso contínuo à saúde. Assim, resolveu que era hora de fomentar novos projetos dentro do cenário universitário da FACISB e, em 2019, auxiliou na criação do Projeto de Assistência à Populações (PAP) que abrangem dois novos projetos de assistência à populações negligenciadas: O Projeto Maloca, que visa levar assistência médica à população indígena de Amambai – MS, e o Projeto Manguinhos, que visa levar assistência médica à população em situação de rua da cidade de Barretos.

Com essa ação, os autores do projeto visam contribuir para a formação de novos jovens acadêmicos pautada em responsabilidade social e vivências que extrapolam o ambiente físico institucional através de projetos de extensão que visam ampliar o acesso de saúde, em especial para populações vulneráveis e negligenciadas pela federação, pelos estados e municípios.

CONCLUSÃO

O projeto proporcionou acesso à saúde para comunidades ribeirinhas, além de aprendizado acadêmico, de responsabilidade profissional e social, empatia e trabalho em equipe aos participantes. Também permitiu uma visão mais abrangente sobre a realidade do sistema público de saúde em regiões carentes e de difícil acesso.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. SUS - princípios e conquistas. Ministério da Saúde, 2001. p. 5-8.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. SUS - princípios e conquistas. Ministério da Saúde, 2001. p. 4-6.
3. Assis MMA, Jesus WLA de. Acesso aos serviços de saúde: abordagens, conceitos, políticas e modelo de análise. Ciênc. saúde coletiva, v. 17, p. 2865-2875, 2012.
4. Ceccim RB, Feuerwerker LCM. O quadrilátero da formação para a área da saúde: ensino, gestão, atenção e controle social. Physis [internet], v. 14, p. 41-65, 2004.
5. Ceccim RB, Feuerwerker LCM. Mudança na graduação das profissões de saúde sob o eixo da integralidade. Cad. de Saúde Pública, v. 20, p. 1400-1410, 2004.
6. Brasil. Ministério da Educação. Conselho Nacional de Educação. Câmara de Educação Superior. Resolução n.3, CNE/CES de 20/06/2014. Institui diretrizes curriculares nacionais do curso de graduação em medicina e dá outras providências. Resolução CNE/CES 3/2014. Diário Oficial da União, Brasília, 23 de junho de 2014 – Seção 1 – pp. 8-11. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/component/docman/?task> [Links]
7. Scheidemantel SE, Klein R, Teixeira, LI. A importância da extensão universitária: o Projeto Construir. In: Congresso Brasileiro de Extensão Universitária. 2004.
8. Roveda JAF. et al. A diversidade e o alcance da Extensão Universitária. Rev. Ciênc. Ext. v.13, n.4, p.2-9, 2017.
9. Prata PR. Desenvolvimento econômico, desigualdade e saúde. cad. de saúde pública, v. 10, p. 387-391, 1994.
10. Martins AC et al. Ensino médico e extensão em áreas Ribeirinhas da Amazônia. Revista Brasileira de Educação Médica, v. 37, n. 4, p. 566-572, 2013.
11. Jezine E. As práticas curriculares e a extensão universitária. In: Congresso Brasileiro de Extensão Universitária. 2004. p. 1-5.
12. Arendt H. A crise na educação: entre o passado e o futuro. P. 247. Editora São Paulo, 1972.

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA

Alícia Monte Vivente Medina

aliciamontevicentemedina@gmail.com

Av. Loja Maçonica Revonadora 68, Número 100
Bairro Aeroporto - Barretos - Sp / Cep: 14785-002



Estratégia Saúde da Família e o Centro de Referência de Assistência Social: vivências e ações na trilha da intersectorialidade - Um relato de experiência

Jeverson Mauro Zanutto¹

¹Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB), Barretos, SP, Brasil

RESUMO

Introdução: O fazer profissional, munido de riquezas e significados, é parte de um processo instigante de construção, requerendo estratégias interventivas criativas e propositivas. Pensando neste percurso e nas ferramentas disponíveis, no âmbito das políticas sociais públicas, o presente artigo socializa relato de uma experiência vivenciada entre 2016 e 2017, em um território de abrangência marcado pela vulnerabilidade social. **Relato de experiência:** O Conjunto Habitacional Dr. Luís Spina, município de Barretos/SP, foi o lócus da vivência, onde a sistematização da reunião integrada entre saúde e a assistência social, considerada de êxito naquele período, reiterou a importância da intersectorialidade, com resultados que marcaram as equipes e a população. Os encontros entre profissionais da Estratégia Saúde da Família e do Centro de Referência de Assistência Social possibilitaram trocas e olhares ampliados, do ponto de vista dos determinantes sociais da saúde e do trabalho social com as famílias. **Conclusão:** Mais uma vez se reconheceu os gargalos do tempo presente, em um cenário onde a atuação profissional perpassa por dificuldades e desafios multifacetados, porém, embasado em possibilidades.

Palavras-chave: Fazer profissional, vulnerabilidade social, intersectorialidade, estratégia saúde da família, centro de referência de assistência social, determinantes sociais da saúde.

ABSTRACT

Introduction: Professionalism is a process endowed with interpretations and meanings. It is part of an exciting process of development, needing creative and propositive intervention strategies. Thinking about this course and the tools available to achieve it, within the scope of public social policies, this article presents the report of an experienced project that occurs between 2016 and 2017, in a territory marked by social vulnerability. **Experience report:** The experience occurs in Dr. Luís Spina neighborhood, in Barretos/ SP, where the systematic integration between public health and social assistance was considered successful in that period and reiterated the importance of intersectoriality. These results impacted both the professional teams and the population. The meetings between professionals of the Family Health Strategy and the Reference Center for Social Assistance enabled exchanges of experience and broader perspectives, from the point of view of the social determinants of health and social work with families. **Conclusion:** Once again, the gap was recognized in the present time, in a scenario where professional performance goes through difficulties and challenges that are multifaceted, but based on possibilities

Keywords: Professionalism; social vulnerability; intersectoral collaboration; family health strategy; social work; social determinants of health.

INTRODUÇÃO

Atuar diretamente nos territórios do município de Barretos tem requisitado olhares ampliados e diálogos que ultrapassam as Unidades de Serviço e políticas setoriais organizadas territorialmente, em especial, quando existe a vulnerabilidade social.

Vulnerabilidade social é entendida como uma ou diversas situações que expõem o indivíduo ao risco, não restrita exclusivamente à pobreza, mas também a toda e qualquer forma de violência/violação nas relações estabelecidas no convívio em sociedade¹.

O cotidiano profissional atrelado à vulnerabilidade, assim como o risco pessoal e social de indivíduos e famílias, têm exigido aproximações indispensáveis e, sobretudo, respostas imediatas às demandas apresentadas.

Com isso, em um cenário onde indivíduos vivenciam a precarização, o desemprego, a informalidade e formas diversificadas de sobrevivência atreladas ao risco, o trabalho intersetorial se mostra como imprescindível e um grande desafio para as políticas públicas, destacando neste contexto a saúde e a assistência social.

O desafio entrelaça-se com a estrutura, lógica de governo e conjuntura em que a intersetorialidade perpassa, apontando também para a compreensão da importância (ou não) dada pelas Secretarias Municipais, no que diz à relevância das ações intersetoriais.

Dadas as particularidades de cada região e respectivas estruturas locais, as políticas sociais públicas, pactuadas entre os entes federados (União, Estado e municípios), materializam-se nos espaços onde a comunidade habita.

Abrindo espaço para conceituar as duas políticas aqui trabalhadas, cabe destacar que o Sistema Único de Saúde (SUS), instituído pela lei nº 8.080/90, tem sua base construída na participação popular, alicerçada na Constituinte de 1988 e destacada pela Lei nº 8.142, de 1990². Organiza-se por níveis de densidade tecnológica e tem na atenção primária à saúde, em especial a Estratégia Saúde da Família (ESF), a base para articular a promoção à saúde, proteção, prevenção, recuperação e reabilitação, e o devido direcionamento aos demais serviços.

Já o Sistema Único de Assistência Social

(SUAS) corporifica a política pública de assistência social, de natureza não contributiva e parte integrante do tripé da seguridade social (saúde, assistência social e previdência social). Tal Sistema foi criado em 15 de Julho de 2005 e sancionado em 2011, no governo de Dilma Rousseff³.

O SUAS é o responsável por oportunizar o acesso aos programas, projetos e serviços à população em situação de vulnerabilidade social, em território nacional, tendo no Centro de Referência de Assistência Social (CRAS) incumbência por organizar a atuação da assistência social nos municípios brasileiros.

Tanto o SUS quanto o SUAS dispõem de unidades essenciais instaladas nos bairros, consideradas portas de entrada da população e norteadoras no acesso aos serviços que integram as respectivas políticas. Destaque para a ESF e o CRAS, que diariamente atendem a população e seus segmentos, percorrendo ciclos etários distintos, ou seja, da infância à velhice.

Cabe elucidar as centralidades de ambas as políticas públicas e a interconexão entre estas, no que confere ao trabalho desenvolvido com as famílias e indivíduos.

No âmbito do Centro de Referência de Assistência Social, o Serviço de Proteção e Atendimento Integral à Família (PAIF) se mostra como a principal estratégia para oportunizar o acesso aos direitos sociais, com oferta de atendimentos particularizados, encaminhamentos, oficinas com famílias, acompanhamento familiar particularizado e em grupo⁴.

Já a ESF está atenta à atenção integral preconizada no SUS, tendo como foco a promoção da qualidade de vida; o acompanhamento por parte de uma equipe multiprofissional e a aproximação à realidade de saúde dos usuários (as) no bairro, onde a vida cotidiana acontece.

Em face do exposto, atuar onde a vulnerabilidade social habita não é tarefa fácil, uma vez que a vida diária com as privações/violações irá influir diretamente no “ter saúde”. Falar em “ter saúde” no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) requer considerar que para o planejamento das ações junto à comunidade existem determinantes sociais, econômicos, políticos, culturais e ambientais⁵, que influem na produção da vulnerabilidade e risco e, portanto, na realidade da população adscrita (aquela

que compõe o território de abrangência, estando devidamente mapeada e referenciada à equipe). Se acrescentarmos a importância das necessidades humanas básicas satisfeitas, conforme elucida Potyara Pereira ao referir-se às necessidades intermediárias, alguns acessos, comuns à todos, são indispensáveis⁶, sendo eles: saneamento básico, alimentação, moradia, condições favoráveis de trabalho, Educação e outros, o que pode potencializar a participação ativa do(a) cidadão(ã) na sociedade e sua condição de ser protagonista da própria história. Sem acessos imprescindíveis, como os citados, não há participação plena.

Considerando a reflexão aqui provocada e dialogando com a realidade vivenciada pelo bairro Luís Spina, área periférica do município de Barretos/SP, cabe uma discussão próxima sobre este espaço, entendendo as dificuldades do território e potencializando as possibilidades interventivas.

Luís Spina: da vulnerabilidade à construção coletiva

Um dos bairros mais precários do município de Barretos é o conjunto habitacional Dr. Luís Spina (Figura 1), espaço territorial onde as políticas públicas são essenciais e no qual a população demanda serviços e ações, das mais diversificadas áreas.

Formado por sete torres/blocos: Ibiza, Astúrias, Florenza, San Marino, Turin, Murano e Mônaco, o bairro contempla as diversas manifestações da “questão social”, expressas pela informalidade,

desemprego, drogadição e outras situações advindas da pobreza⁷.

Do ponto de vista social, é possível traçar um perfil da população sob variados ângulos, avaliando que a vulnerabilidade se assemelha em diversos núcleos, não se tornando regra, mas atingindo grande parcela das famílias. Por isso, em nosso período de atuação profissional no bairro, uma das estratégias interventivas adotadas foi a reunião integrada entre saúde e assistência social, considerando que as famílias e indivíduos acessam os dois espaços institucionais, com demandas e necessidades que dialogam entre si.

RELATO DE EXPERIÊNCIA

À época, a proposta de iniciar a discussão com o coletivo foi apresentada para a enfermeira coordenadora e ao médico de família, da ESF Dr. Luís Spina, localizada dentro do bairro. Ambos potencializaram a ideia e contribuíram na conscientização da equipe multiprofissional, sobre os benefícios das reuniões integradas e seu alcance no trabalho final, ou seja, na intervenção com as famílias e indivíduos acompanhados. Inicialmente, as reuniões foram motivadas para os(as) profissionais participantes entenderem as particularidades dos serviços ofertados nas duas políticas.

Os encontros passaram a acontecer com frequência mensal, na unidade de ESF e no intervalo entre um mês e outro, os casos eram trabalhados



Figura 1. Localização do residencial Luís Spina e José Faleiros, na área de abrangência do CRAS/NAS. Fonte: Diagnóstico Socioterritorial do Município de Barretos - 2015⁷.

conjuntamente e posteriormente avaliados, sendo apontadas as dificuldades e os avanços. Se compararmos tal iniciativa com um exemplo concreto de uma das práticas de saúde, a ação desenvolvida assemelhou-se à construção de um Projeto Terapêutico Singular (PTS), que por vez é aplicado com a intenção de planejar as metas terapêuticas a serem articuladas, tratando-se de um acompanhamento de indivíduo, família e/ou grupo.

As intervenções foram desenhadas pela equipe e pensadas diretamente com as famílias e indivíduos, exigindo esforços de todas(os).

DISCUSSÃO

Falar em trabalho intersetorial, entendendo as particularidades de cada município na efetivação desta importante ação permanente, por mais que seja pautada nas legislações que norteiam as políticas sociais públicas em destaque, ainda é considerada um gargalo. Daí a necessidade de partilhar as experiências exitosas e fomentar discussões continuadas.

Um artigo científico que aborda a relevância da intersetorialidade no espaço da ESF e os dificultadores cotidianos em sua legitimação, apontam para o desafio das equipes de saúde e gestão em romperem com as visões reducionista e biologistas, construindo e reconstruindo olhares⁸.

Intervir nos determinantes intimamente ligados à condição material de vida da população, não se restringindo à oferta de serviços clínico-assistenciais, mas atrelando ações que prezam pela intersetorialidade e o envolvimento de todas as políticas⁹, torna-se tarefa do tempo presente.

A partilha da ESF com o CRAS e vice-versa, apontando quem são essas famílias atendidas/acompanhadas e pensando em estratégias interventivas conjuntas, oportunizou a possibilidade de se trabalhar na direção do acesso qualificado e efetivo aos serviços.

O percurso socializado neste relato de experiência foi extremamente produtivo, incentivando a discussão permanente de casos e repercutindo no trabalho final. Tal experiência possibilitou um redirecionamento dos encaminhamentos, visto que não era de conhecimento objetivo de todos (as), as atribuições e competências de cada esfera, o que

estreitou e otimizou o fazer profissional.

Em síntese, a reunião integrada entre saúde e assistência social trouxe para os profissionais envolvidos a oportunidade de desconstrução, novos aprendizados, reflexão e, sobretudo, a potencialização de um trabalho coletivo e não fragmentado.

REFERÊNCIAS

1. Dicionário de termos técnicos da Assistência Social/ Belo Horizonte. Prefeitura Municipal. Secretaria Municipal Adjunta de Assistência Social. Belo Horizonte: ASCOM, 2007. 132 p.
2. Brasil. Legislação do SUS. Brasília, DF: CONASS, 2003.
3. Brasil. Sistema Único de Assistência Social. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2011/lei/l12435.htm
4. Brasil. Ministério de Desenvolvimento Social e Combate a Fome. Orientações Técnicas sobre o PAIF - Serviço de Proteção e Atendimento Integral à Família. Trabalho Social com Famílias do Serviço de Proteção e Atendimento Integral à Família – PAIF. Brasília, v. 2, 2012.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Política Nacional de Promoção da Saúde. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014.
6. Pereira PAP. Necessidades humanas: subsídios à crítica dos mínimos sociais. São Paulo: Cortez, 2000. p. 65 – 86.
7. Brasil. Vigilância e Defesa Social – 1 ed. Barretos: Secretaria de Assistência Social e Desenvolvimento Humano, 2015, 201 p.
8. Dias MSDA, Parente JRF, Vasconcelos MIO, Dias FAC. Intersetorialidade e Estratégia Saúde da Família: tudo ou quase nada a ver? Ciênc. saúde coletiva [online]. 2014, vol.19, n.11, pp.4371-4382. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/csc/v19n11/1413-8123-csc-19-11-4371.pdf>
9. Brasil. Conselho Nacional de Secretários da Saúde. Promoção da Saúde / Propostas do Conselho Nacional de Secretários de Saúde (CONASS) para sua efetivação como política pública no Brasil, 2016.

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA

Jeverson Mauro Zanutto

jeversonzanutto@hotmail.com

Prefeitura do Município de Barretos.
Avenida Antônio Frederico Ozanam, Dom João Bosco
14781000 - Barretos, SP - Brasil

Desenvolvimento de dispositivo de baixo custo para punção venosa periférica para treino e habilidade de estudantes de medicina: relato de experiência

Robson Aparecido dos Santos Boni¹, Aline Junqueira Bezerra¹, Rodrigo Chaves Ribeiro¹, Wilson Elias de Oliveira Júnior¹

¹Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos - Dr. Paulo Prata, SP, Brasil

RESUMO

Objetivo: Desenvolvimento de um modelo de baixo custo para punção venosa periférica para oferecer ao estudante de medicina a possibilidade de treino e aquisição de habilidade. **Materiais e Métodos:** foram utilizados para confecção do dispositivo, bandejas de isopor de (15x15x1,8 cm), 1 Kg de BS adesivo branco PS marca Redelease® com catalisador. Para os vasos sanguíneos foram usados garrotes tubulares de látex com dimensões 30 x 0,5 cm, a parede do garrote possuía 0,1 cm e diâmetro luminal de 0,3 cm. O lúmen do garrote foi preenchido com sangue artificial. As bandejas de isopor foram usadas como fôrma molde para incorporação dos garrotes, bem como para controlar a profundidade de imersão, o que simularia a profundidade da veia em relação à pele. Foram feitos orifícios de 0,5 cm bilaterais nas bandejas para passagem dos garrotes. Logo, os garrotes foram cobertos pela mistura da borracha de silicone com seu catalisador, obedecendo a proporção de 3% recomendado pelo fabricante. Esse sistema foi instalado em bomba de infusão com fluxo contínuo para simular o fluxo vascular. **Relato de experiência:** O sistema de bomba de infusão, criou uma pressão na luz tubular do garrote semelhante a pressão venosa. Desta forma, ao puncionar com o dispositivo agulhado, era possível observar o retorno do sangue artificial. Foi observada boa resistência da borracha às sucessivas perfurações, bem como percepção tátil à palpação digital e custo acessível. **Conclusão:** o dispositivo cumpriu o propósito de seu desenvolvimento, teve ótima reprodutibilidade e custo consideravelmente inferior aos manequins industriais.

Palavras-chave: Punção venosa periférica, treinamento em simulador; educação médica, treinamento de habilidades.

ABSTRACT

Aim: Development of a low-cost peripheral venipuncture model offering to medical students the possibility of training and skills improvement. **Methods:** Styrofoam trays (15x15x1.8cm), 1 kg of BS Redelease® white adhesive PS with catalyst were used to create the model. For the blood vessels, 30 x 0.5 cm tubular latex tourniquets were used, the tourniquet wall had 0.1 cm and a luminal diameter of 0.3 cm. The tourniquet lumen was filled with artificial blood. Styrofoam trays were used as a mold to incorporate the tourniquets, as well as to control the depth of immersion, which would simulate the depth of the vein in relation to the skin. Bilateral 0.5 cm holes were drilled in the trays to pass the rubber tourniquets. Therefore, the tourniquets were covered by mixing the silicone rubber with its catalyst, obeying the proportion of 3% recommended by the manufacturer. This system was installed in a continuous flow infusion pump to simulate vascular flow. Experience report: The infusion pump system created a pressure on the tubular light of the rubber tourniquets similar to venous pressure. Thus, when puncturing with a needle, it was possible to observe the return of artificial blood. Great rubber resistance was observed after successive perforations, as well tactile perception to digital palpation and an affordable cost. **Conclusion:** the device fulfilled the purpose of its development, had excellent reproducibility and cost considerably lower than industrial mannequins.

Keywords: Simulation, peripheral venipuncture, medical education, skill training.

INTRODUÇÃO

A partir do ano de 2014, o Ministério da Educação pautado em leis vigentes instituiu as Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Medicina, onde em seu capítulo I, art. 5º, item IV, determina que o estudante de medicina deve apresentar “segurança na realização de processos e procedimentos, referenciados nos mais altos padrões da prática médica, de modo a evitar riscos, efeitos adversos e danos aos usuários, a si mesmo e aos profissionais do sistema de saúde¹...”. Baseado nas Diretrizes vigentes, a Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos Dr. Paulo Prata – FACISB, tem como metodologia de ensino, a aprendizagem por módulos de objetivos. Esta metodologia é aplicada em todas as Unidades Curriculares do Curso de Medicina, com vistas à integração das áreas Básicas (Anatomia, Fisiologia, Farmacologia, Embriologia etc.) e clínicas (Pediatria, Ginecologia, Pneumologia, Cardiologia etc.). Neste processo, o aluno faz uso de ambiente simulado e protegido para desenvolvimento e aperfeiçoamento de suas habilidades profissionais, sempre sob orientação do docente especialista.

Desta forma, os avanços tecnológicos ajudam substancialmente para a criação de cenários de ensino protegidos com uso de modelos de simulação, pois possibilita um ganho quando comparado ao formato pedagógico do ensino médico usado no passado². É importante destacar que o modelo pedagógico ativo propicia ao estudante a capacidade de observar, ouvir, refletir e, conseqüentemente, aprender a aprender e obter a desenvoltura para autoaprendizagem^{2,3}.

Em direção ao propósito pedagógico reforçado pelo código de ética médica, essencialmente deontológico que considera os princípios da não maleficência e da beneficência ao paciente, é vital que a formação médica prepare e habilite o estudante para cumprir tais princípios⁴.

Várias empresas estão desenvolvendo e aperfeiçoando, modelos e simuladores para a prática de habilidades médicas. Para a confecção e elaboração dos modelos são utilizados, na maioria das vezes, materiais importados que contribuem para elevado custo dos modelos, manequins e dispositivos bioeletrônicos. Além disso, ocorre a necessidade de manutenção periódica destes equipamentos, tais como: atualização de software, substituição de

estruturas anatômicas e componentes danificados. Os modelos de treinamento e os simuladores sofrem desgaste devido ao uso sucessivo e periódico nas práticas de ensino, contribuindo assim, com aumento de custos para a Instituição de Ensino⁵.

Em função do alto custo dos materiais de simulação, bem como do grande número de estudantes regularmente matriculados na FACISB, os autores deste trabalho idealizaram a elaboração de dispositivos alternativos, de baixo custo e, que pudessem mimetizar os modelos de alto custo de punção venosa periférica com o máximo de similaridade funcional. Assim, foram testados diferentes compostos sintéticos para elaboração do modelo, cujo intuito era avaliar a capacidade de resistência dos compostos, durabilidade, similaridade ou proximidade com a condição real, além da viabilidade para produzir um número suficiente para uso em ensino e treinamento.

RELATO DE EXPERIÊNCIA

O acesso vascular consiste em um procedimento técnico comumente executado por profissionais da equipe de saúde, podendo estes serem médicos, enfermeiros e técnicos de enfermagem. Na educação médica, de acordo com as novas diretrizes, o estudante deverá adquirir competências e habilidades básicas durante o ensino da graduação, sendo propostos cenários para execução de técnicas em ambientes controlados para facilitar a aquisição de destreza.

O presente trabalho desenvolveu uma placa de silicone para realização de punção venosa de maneira eficiente e segura. Na confecção deste dispositivo, foram utilizados: bandejas de isopor rasa CRL01 (15x15x1,8 cm), pinça kelly ABC reta de 14 cm, 1 Kg de BS ADESIVO BRANCO PS marca Redelease® acrescido do catalizador na proporção de 3%. A BS ADESIVO BRANCO PS® é um elastômero bi-componente, vulcanizável à temperatura ambiente e que após a adição de catalisador, resulta num produto elástico e resistente simulando os tecidos do corpo humano adjacentes aos vasos sanguíneos. Para reproduzir os vasos sanguíneos foram utilizados garrotes tubulares de látex (Figura 1). O garrote tubular de látex apresenta 30 cm de comprimento, 0,5 cm de largura, 0,1 cm de espessura e diâmetro luminal de 0,3 cm. Com finalidade de testes, as extremidades dos garrotes foram conectadas num sistema de soro,



Figura 1. (A) Borracha de Silicone branca PS e catalisador Redelease®; (B) Preparação da bandeja para inserção dos garrotes.

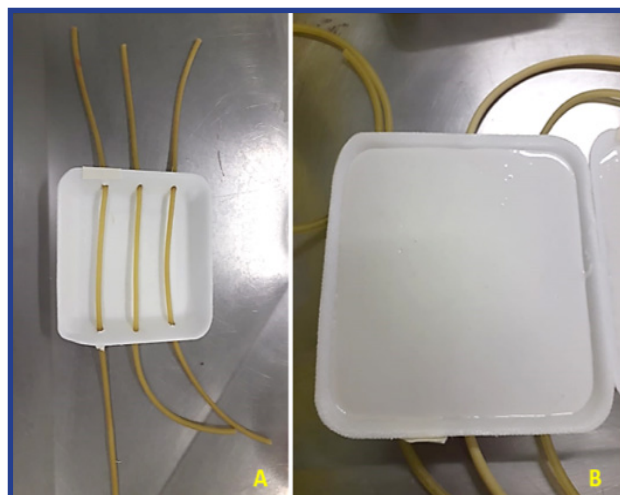


Figura 2. (A) Bandeja de isopor com os garrotes instalados preparados para cobertura com borracha de silicone; (B) Borracha de silicone já catalisada com os garrotes imersos.

contendo equipo e bolsa com 500mL com sangue artificial. O sangue artificial foi confeccionado a partir duma mistura de corante vermelho cochonilha, glicerina bidestilada e água destilada na proporção de 1:1:5, respectivamente.

As bandejas de isopor foram usadas como dispositivo molde para incorporação dos garrotes, bem como para controlar a profundidade de imersão, o que simularia a profundidade da veia em relação à pele. Foram feitos orifícios de 0,5 cm bilaterais nas bandejas para passagem dos garrotes e, em seguida, os garrotes foram cobertos pela mistura da borracha de silicone com seu catalisador obedecendo a proporção de 3% recomendado pelo fabricante (Figura 2).

No treinamento dos estudantes, o sistema foi instalado em bomba de infusão (BI) com fluxo

contínuo (10 mL/h) para simular o fluxo vascular. A conexão do dispositivo na BI, permitiu criar por meio da bomba, uma pressão na luz tubular do garrote de aproximadamente 15 mmHg, semelhante a pressão venosa do membro superior. Desta forma, quando puncionado com os dispositivos agulhados (ex., seringa com agulha ou BD® vacutainer ou scalp), ocorre o retorno do sangue artificial para o interior do dispositivo de coleta (Figura 3).

Os dispositivos agulhados que podem ser utilizados nas atividades práticas são os mesmos utilizados em ambientes de assistência à saúde, estando disponíveis comercialmente. São eles: cateteres agulhados (Scalps ou Butterflies), cateteres sobre agulhas (Jelcos, Abocaths) e, agulhas hipodérmicas de vários calibres.

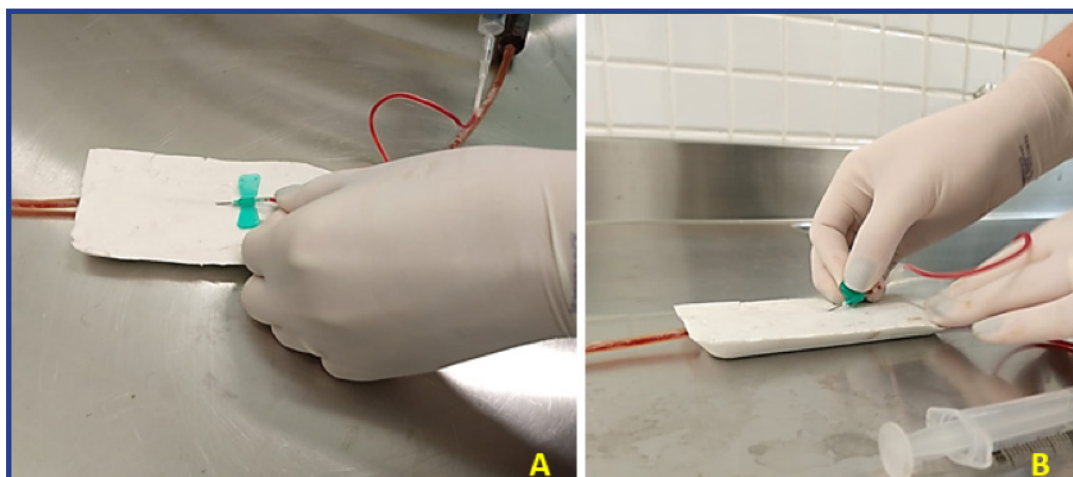


Figura 3. (A e B) Modelo pronto sendo testado com punção por Scalp G21 acoplado a uma seringa de 5 ml.

Mesmo em se tratando de um ambiente de simulação, as regras de biossegurança são respeitadas. Os estudantes seguem todos os passos de acordo com o protocolo de punção de acesso vascular utilizado pela Instituição de Ensino.

DISCUSSÃO

A obtenção de acesso venoso é uma habilidade técnica fundamental de treinamento obrigatório para todos os profissionais de saúde, com inúmeros trabalhos na literatura demonstrando que o índice de complicação é menor quanto maior for a experiência do operador^{6,7}. A simulação é uma ferramenta valiosa para aumentar a segurança do paciente e acrescer a habilidade profissional médica^{8,9}.

Diante deste cenário, a elaboração de dispositivos artificiais para simulação desta técnica oferece a possibilidade de treinamentos intensivos que não oferecem risco ao paciente e melhoram a acurácia do executor^{10,11}. A possibilidade de múltiplas punções em um mesmo simulador, aumenta o treinamento desta habilidade prática e tem como objetivo principal executar os mesmos passos aplicados na abordagem ao paciente ao mesmo tempo que corrige os erros mais frequentes.

Os dispositivos para punção de acesso vascular são utilizados na nossa Instituição durante aulas práticas nas unidades de Habilidades Médicas referentes ao Sistema Circulatório. As atividades são realizadas nos laboratórios de técnicas cirúrgicas com turmas de 90 alunos, divididos em 15 alunos por turno. Cada aluno pode treinar a habilidade de punção nos modelos quantas vezes forem necessárias para se sentir seguro em realizar o procedimento. O professor acompanha a realização do procedimento de cada aluno e já corrige falhas técnicas de execução¹². Portanto, o aluno obtém o feedback imediato das falhas que possam ter ocorrido durante o procedimento, seja pela forma visual (o sangue não retorna) e/ou pela correção do professor (ângulo de inserção da agulha, por exemplo).

CONCLUSÃO

O dispositivo de punção descrito permite o treinamento de acesso vascular, oferecendo uma alternativa de baixo custo, boa sensibilidade tátil,

durabilidade adequada e fácil reprodução, visto que os materiais usados na confecção são de fácil acesso e o método empregado na montagem é simples e pode ser utilizado para fins educacionais.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao suporte financeiro setorial do Hospital Simulado da Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos Dr. Paulo Prata – FACISB.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores reportam não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Educação. Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Medicina. Resolução No3, de 20 de Junho de 2014. Diário Of da União. 2014;85(1):2071–9.
2. Flores CD, Bez MR, Bruno RM. O Uso de Simuladores no Ensino da Medicina. Rev Bras Informática na Educ. 2014;22(02):98.
3. Varga CRR, Almeida V de C, Germano CMR, Melo DG, Chachá SGF, Souto BGA, et al. O Uso de Simuladores no Ensino da Medicina. Rev Bras Educ Med. 2014;22(3):98.
4. Taquette SR, Rego S, Schramm FR, Soares LL, Carvalho SV. Situações eticamente conflituosas vivenciadas por estudantes de medicina. Rev Assoc Med Bras. 2005;51(1):23–8.
5. Hübner GS dos S. Desenvolvimento De Um Manequim Simulador De Punção Venosa Para Educação Na Saúde: Da Ideia Ao Protótipo. 2015;104.
6. Al-Elq A. Simulation-based medical teaching and learning. J Fam Community Med [Internet]. 2010;17(1):35. Available from: <http://www.e-jfcm.com/text.asp?2010/17/1/35/68787>
7. Troianos CA, Hartman GS, Glas KE, Skubas NJ, Eberhardt RT, Walker JD, et al. Guidelines for Performing Ultrasound Guided Vascular Cannulation. Anesth Analg [Internet]. 2012 Jan;114(1):46–72. Available from: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00000539-201201000-00007>
8. Rocha IR de O, Oliveira MHB de, Bengtson KL, Alves AMN, Brito MVH. Modelo artesanal para treinamento de acesso vascular periférico. J Vasc

- Bras [Internet]. 2017 Aug 21;16(3):195–8. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-54492017000300195&lng=pt&tlng=pt
9. Rippey JCR, Blanco P, Carr PJ. An Affordable and Easily Constructed Model for Training in Ultrasound-guided Vascular Access. *J Vasc Access* [Internet]. 2015 Sep 9;16(5):422–7. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.5301/jva.5000384>
10. Walsh R, Black C, Krieger J. A Novel Arterial Line Simulation Model. *Mil Med* [Internet]. 2019 Mar 1;184(Supplement_1):326–8. Available from: https://academic.oup.com/milmed/article/184/Supplement_1/326/5418658
11. FÜRST RV de C, Polimanti AC, Galego SJ, Bicudo MC, Montagna E, Corrêa JA. Ultrasound-Guided Vascular Access Simulator for Medical Training: Proposal of a Simple, Economic and Effective Model. *World J Surg* [Internet]. 2017 Mar 20;41(3):681–6. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00268-016-3757-x>
12. McGaghie WC, Issenberg SB, Petrusa ER, Scalese RJ. A critical review of simulation-based medical education research: 2003-2009. *Med Educ* [Internet]. 2010 Jan;44(1):50–63. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2923.2009.03547.x>
-

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA
Robson Aparecido dos Santos Boni
bonianato@gmail.com

Av. Loja Maçonica Revonadora 68, Número 100
Bairro Aeroporto - Barretos - Sp / Cep: 14785-002