

Revista de Ciências Médicas
Journal of Medical Sciences



Pontifícia Universidade Católica de Campinas
(Sociedade Campineira de Educação e Instrução)

GRÃO-CHANCELER

Dom Bruno Gamberini

REITOR

Padre Wilson Denadai

VICE-REITORA

Angela de Mendonça Engelbrecht

DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA

Miralva Aparecida de Jesus Silva

DIRETOR-ADJUNTO

José Gonzaga Teixeira de Camargo

EDITOR CHEFE / EDITOR-IN-CHIEF

Lineu Corrêa Fonseca

EDITORES ASSOCIADOS / ASSOCIATE EDITORS

Gilson E. Gonçalves e Silva (UFPE - Recife)

Glória Maria Tedrus (PUC-Campinas)

Marcelo Zugaib (USP - São Paulo)

EDITORA GERENTE / MANAGER EDITOR

Maria Cristina Matoso (SBI/PUC-Campinas)

CONSELHO EDITORIAL / EDITORIAL BOARD

Ana Cláudia G.O. Duarte (UFSCar - São Carlos)

Aronita Rosenblatt (FO/UFPE - Recife)

Audrey Borghi Silva (UFSCar - São Carlos)

Carlos K.B. Ferrari (FSP/USP - São Paulo)

Dirceu Solé (Unifesp - São Paulo)

Emanuel S.C. Sarinho (UFPE - Recife)

Francisco Espinosa-Rosales - Inst. Nac. Pediatria - México

Helena Schmid (FFFCMPA - Porto Alegre)

Iracema M.P. Calderón (Unesp - Brasil)

José Luis Braga de Aquino (PUC-Campinas - Campinas)

Márcia Vítolo (FFFCMPA - Porto Alegre)

Mário Augusto Paschoal (PUC-Campinas - Campinas)

Mário Viana Queiroz - FM - Portugal

Neura Bragagnolo (Unicamp - Campinas)

Pablo J. Patiño - Universidad de Antioquia - Colômbia

Ricardo U. Sorensen - USA

Sérgio Luiz Pinheiro (PUC-Campinas - Campinas)

Silvana M. Srebernick (PUC-Campinas - Campinas)

Equipe Técnica / Technical Group

Normalização e Indexação / Standardization and Indexing

Maria Cristina Matoso

Indexação

Janete Gonçalves de Oliveira Gama

O Conselho Editorial não se responsabiliza por conceitos emitidos em artigos assinados.

The Board of Editors does not assume responsibility for concepts emitted in signed articles.

A eventual citação de produtos e marcas comerciais não expressa recomendação do seu uso pela Instituição.

The eventual citation of products and brands does not express recommendation of the Institution for their use.

Copyright © Revista de Ciências Médicas

É permitida a reprodução parcial desde que citada a fonte. A reprodução total depende da autorização da Revista.

Partial reproduction is permitted if the source is cited. Total reproduction depends on the authorization of the Revista de Ciências Médicas.

Revista de Ciências Médicas

Journal of Medical Sciences

Continuação do título Revista de Ciências Médicas-PUCAMP, fundada em 1992. É publicada bimestralmente e é de responsabilidade do Centro de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Publica trabalhos da área de Saúde realizados na Universidade, bem como de colaboradores externos. *Revista de Ciências Médicas is former Revista de Ciências Médicas-PUCAMP, founded in 1992. It is published every two months and it is of responsibility of the "Centro de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Campinas". It publishes works carried out at the University in the field of Health, as well as external contributors works.*

COLABORAÇÕES / CONTRIBUTIONS

Os manuscritos (quatro cópias) devem ser encaminhados ao Núcleo de Editoração SBI/CCV e seguir as "Instruções aos Autores", publicadas no final de cada fascículo.

All manuscripts (the original and two copies) should be sent to the Núcleo de Editoração SBI/CCV and should comply with the "Instructions for Authors", published in the end of each issue.

ASSINATURAS / SUBSCRIPTIONS

Pedidos de assinatura ou permuta devem ser encaminhados ao Núcleo de Editoração SBI/CCV.

E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br

Annual: • Pessoas físicas: R\$50,00
• Institucional: R\$100,00

Aceita-se permuta

Subscription or exchange orders should be addressed to the Núcleo de Editoração SBI/CCV.

E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br

Annual: • Individual rate: R\$50,00
• Institutional rate: R\$100,00

Exchange is accepted

CORRESPONDÊNCIA / CORRESPONDENCE

Toda a correspondência deve ser enviada à Revista de Ciências Médicas no endereço abaixo:

All correspondence should be sent to Revista de Ciências Médicas at the address below:

Núcleo de Editoração SBI/CCV

Av. John Boyd Dunlop, s/n. - Prédio de Odontologia - Jd. Ipaussurama

13060-904 - Campinas - SP - Brasil.

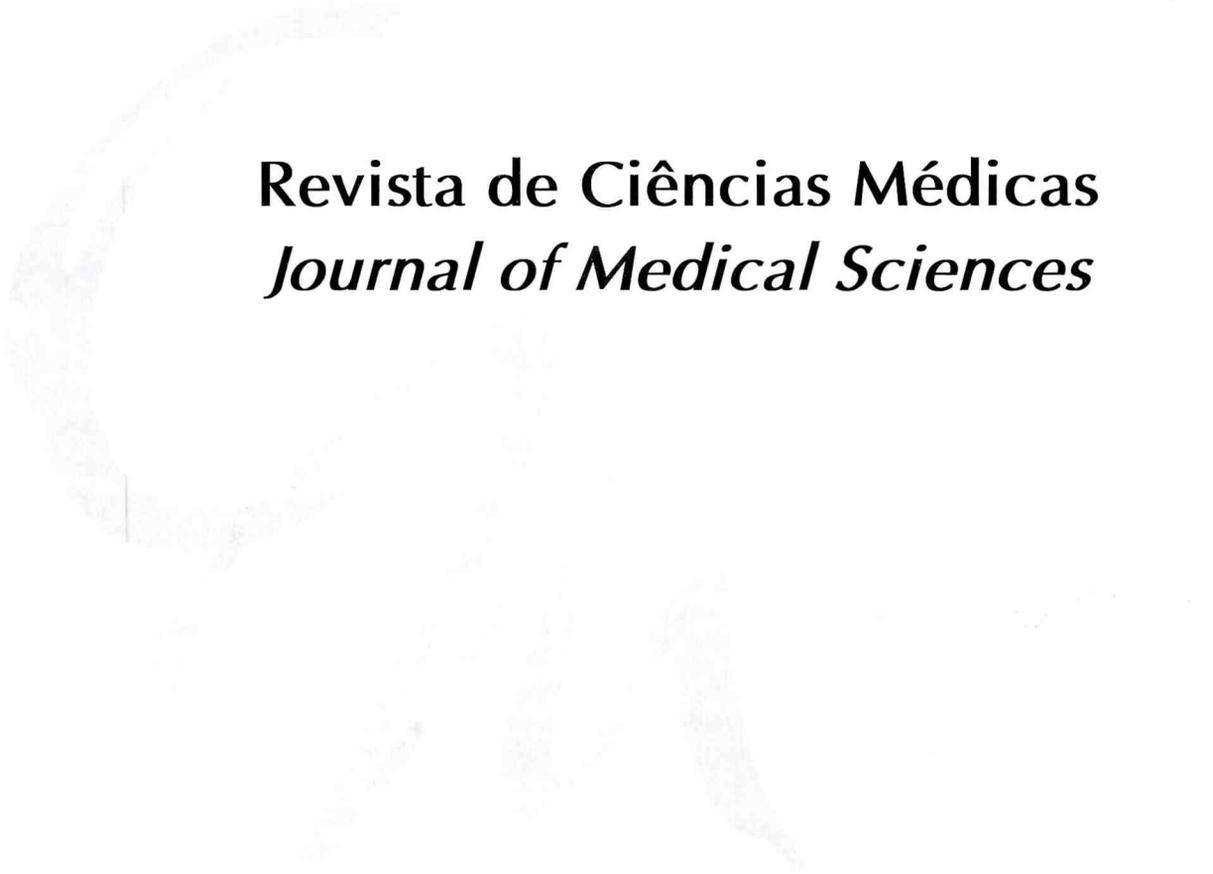
Fone +55-19-3343-6859/6876 Fax +55-19-3343-6875

E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br

Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/ccv>

INDEXAÇÃO / INDEXING

A Revista de Ciências Médicas é indexada na Base de Dados: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), CAB Abstract, Qualis B-5 - Medicina II. *Revista de Ciências Médicas is indexed in the following Databases: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), CAB Abstract and Global Health, Index Psi. Lista Qualis: B5 - Medicina II.*



Revista de Ciências Médicas
Journal of Medical Sciences

ISSN 1415-5796

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas e
Informação – SBI – PUC-Campinas

Revista de Ciências Médicas = Journal of Medical Sciences. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Campinas, SP, v.10 n.1 (jan./abr. 2001-).

v.18 n.5/6 set./dez. 2009

Quadrimestral 1992-2002; Trimestral 2003-2004; Bimestral 2005-
Resumo em Português e Inglês.

Continuação de: Revista de Ciências Médicas PUCCAMP v.1 n.1 (1992) –
v.6 (1997); Revista de Ciências Médicas 1998-2000 v.7 – v.9.

ISSN 0104-0057

ISSN 1415-5796

1. Medicina - Periódicos. I. Pontifícia Universidade Católica de Campinas.
Centro de Ciências da Vida.

CDD 610

Revista de Ciências Médicas

Journal of Medical Sciences



SUMÁRIO / CONTENTS

Artigos Originais | *Original Articles*

- 235 Doença periodontal e diabetes *mellitus*: uma via de mão dupla
Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way road
Maria Rozeli de Souza Quirino, João Carlos Moreira Jardim, Paulo Henrique Nogueira Rezende, Rogério Cardoso Bulhões, Débora Pallos
- 243 Epilepsia e depressão: aspectos sociodemográficos e clínicos associados
Sociodemographic and clinical factors associated with depression in epilepsy
Gloria Maria de Almeida Souza Tedrus, Lineu Corrêa Fonseca, André Luís Ayres da Fonseca, Rachel Marin Carvalho, Emmanuel Machado Oliveira
- 251 Comportamento de ratos imobilizados na posição de 90° do tornozelo e submetidos à estimulação elétrica muscular
Behavior of rats with ankle immobilized at 90° submitted to electric muscle stimulation
Carlos Alberto da Silva, Rinaldo Roberto de Jesus Guirro, Reinaldo Macedo Junior, Juliana Libardi

Revisão | *Review*

- 259 Homocisteína e risco cardiovascular
Homocysteine and cardiovascular risk
Wagner de Jesus Pinto, Miguel Arcanjo Areas, José Eduardo de Marialva, Silvana Maria Guida Cardoso, Elisabete Graisfimberg Pinto
- 269 Doença hepática gordurosa não alcoólica: patogênese e achados histológicos com ênfase nas alterações mitocondriais
Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and histological findings, with emphasis on mitochondrial alterations
Gustavo Henrique da Silva, Cecilia Amelia Fazzio Escanhoela

Relato de Caso | Case Report

- 281 Hiperplasia epitelial papilomatosa em crianças
Focal epithelial hyperplasia in infants
Sérgio Luiz Pinheiro, Joanna Maciel Rocha Penteado de Aguiar, Natália Brianez, Tamara Camarota Nascimento, Gabriel Tilli Politano, Sandra Regina Echeverria Pinho da Silva
- 287 Doença de Huntington: aspectos diagnósticos e implicações éticas
Huntington's disease: diagnostic aspects and ethical implications
Bruna Antunes de Aguiar Ximenes, Eduardo Henrique Teixeira
- 293 Índices
Indexes
- 297 Agradecimentos
Acknowledgements
- 301 Instruções aos Autores
Instructions for Authors

Doença periodontal e diabetes *mellitus*: uma via de mão dupla

Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way road

Maria Rozeli de Souza QUIRINO¹
João Carlos Moreira JARDIM²
Paulo Henrique Nogueira REZENDE³
Rogério Cardoso BULHÕES⁴
Débora PALLOS¹

RESUMO

Objetivo

Verificar as condições periodontais dos pacientes diabéticos.

Métodos

Participaram do estudo 32 diabéticos tipo 2 não controlados (valor de referência da hemoglobina glicada de 7%) e 45 indivíduos não diabéticos do grupo-controle, dos quais 30 com doença periodontal e 15 saudáveis. Foram verificados os seguintes parâmetros periodontais: profundidade a sondagem, perda de inserção clínica e dentes ausentes. Os dados foram analisados pelo teste Mann Whitney e teste *t* Student.

Resultados

Entre os diabéticos, 17 apresentaram periodontite crônica leve; 11, moderada; e 4, avançada; dos não diabéticos, 15 estavam saudáveis; 13, com periodontite crônica leve; 15, com periodontite moderada; e 2, com avançada. Os pacientes diabéticos apresentaram um maior número de dentes ausentes quando comparados aos não diabéticos ($p < 0,009$ e $p < 0,0000$), profundidade a sondagem maior

¹ Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia. R. Expedicionário Ernesto Pereira, 110, 12020-330, Taubaté, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: M.R.S. QUIRINO. E-mail: <rozeli@uol.com.br>.

² Faculdade de Odontologia de Valença. Valença, RJ, Brasil.

³ Universidade de Taubaté, Departamento de Ciências Médicas. Taubaté, SP, Brasil.

⁴ Consultor de Estatística e Sistemas de Gestão. Taubaté, SP, Brasil.

que o grupo saudável ($p < 0,0000$) e menor que o grupo só com doença periodontal ($p < 0,0009$); perda de inserção clínica não apresentou diferença estatística entre os diabéticos e não diabéticos com doença periodontal ($p = 0,1576$), houve diferença apenas em relação ao grupo saudável.

Conclusão

No presente estudo o grupo com diabetes apresentou maior perda dentária, o que poderia ser resultado de doença periodontal. Novos estudos devem ser conduzidos para esclarecer melhor essa associação.

Termos de indexação: Diabetes *mellitus*. Fatores de risco. Perda óssea alveolar.

ABSTRACT

Objective

The objective of this study was to determine the periodontal condition of diabetic patients.

Methods

In the study, 32 type 2 uncontrolled diabetic patients (reference value of hemoglobin of 7%) and 45 nondiabetic controls (30 with periodontal disease and 15 healthy) were evaluated. The following periodontal parameters were verified: periodontal probing depth, clinical attachment loss and missing teeth. The data were analyzed by the Mann Whitney and Student's *t* test.

Results

Among diabetic patients, 17 had mild chronic periodontitis, 11 moderate and 4 severe, while in nondiabetics 15 were healthy, 13 had mild chronic periodontitis, 15 moderate and 2 severe. Diabetic patients had more missing teeth than the nondiabetic groups ($p < 0,009$ and $p < 0,0000$); periodontal disease was worse than that of the healthy group ($p < 0,0000$) but better than that of the group with periodontal disease ($p < 0,0009$); there was no statistically significant difference in clinical attachment loss between diabetic and nondiabetic patients with periodontal disease ($p = 0,1576$); they only differed from the healthy group.

Conclusion

In this study the group with diabetes had a greater number of missing teeth, which could be the result of periodontal disease. Further studies should be conducted to clarify this association.

Indexing terms: Diabetes *mellitus*. Risk factors. Alveolar bone loss.

INTRODUÇÃO

O Diabetes *Mellitus* (DM) é considerado um grupo heterogêneo de desordens metabólicas manifestadas por uma elevação do nível de glicose no sangue, sendo reconhecido que, a longo prazo, a hiperglicemia crônica causa dano ao coração, aos olhos, aos rins, aos nervos e ao sistema vascular¹. Entre as maiores complicações do diabetes *mellitus*, a periodontite ocupa o sexto lugar, ocorrendo princi-

palmente nos diabéticos não controlados². Estudos clínicos e epidemiológicos têm demonstrado que pacientes diabéticos apresentam uma maior incidência de doença periodontal quando comparados com a população em geral³⁻⁷. O modo como o diabetes *mellitus* pode contribuir para a doença periodontal ainda não está bem estabelecido, mas estudos sugerem que estaria relacionado com mecanismos e mediadores da resposta inflamatória do tecido injuriado^{1,8-12}.

De caráter progressivo, a periodontite é uma doença inflamatória crônica dos tecidos de suporte dos dentes, que leva à destruição do osso e dos tecidos de inserção - ligamento periodontal -, sendo a maior causa de perda dental nos adultos. A causa associada a uma infecção bacteriana é bem estabelecida. Bactérias subgingivais - incluindo *Porphyromonas gingivallis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* - e *espiroquetas* são alguns de seus agentes etiológicos. A susceptibilidade do hospedeiro a esses agentes bacterianos também pode ter um importante papel na prevalência e progressão da doença¹³.

Em relação ao entendimento do papel do hospedeiro na progressão da doença, sabe-se que, após uma estimulação bacteriana, ocorre vasculite dos pequenos vasos sanguíneos, e bactérias e outras substâncias bacterianas, especialmente os Lipopolissacarídeos (LPS), atravessam o epitélio juncional da bolsa periodontal para ter acesso ao tecido conjuntivo e aos vasos sanguíneos. Todos os componentes do sangue e do soro, dessa forma, passam para o tecido conjuntivo. Os linfócitos B e T, os plasmócitos e os macrófagos aparecem no tecido periodontal. Os LPS interagem com os monócitos e macrófagos, ativando essas células para sintetizarem grandes quantidades de interleucina 1 (IL-1), Fator de Necrose Tumoral (FNT), Prostaglandina E₂ (PGE₂) e Metaloproteinases matriciais (MMPS). A PGE₂, a IL-1 e o FNT são mediadores da reabsorção óssea, enquanto as MMPs degradam o colágeno do tecido conjuntivo. Essa destruição do tecido conjuntivo e a reabsorção do osso alveolar conduzem aos sinais clínicos da doença: perda óssea e da inserção periodontal¹⁴.

Fatores de risco associados à doença periodontal incluem: aumento da idade, placa/biofilme dental, bactérias patogênicas, disfunção imune, deficiência nutricional, uso de medicação como corticoide, gênero, estresse, tabaco, genética e condições sistêmicas, incluindo alterações de neutrófilos, diabetes *mellitus*, gravidez, alterações hormonais e osteoporose¹⁵⁻¹⁶.

A relação entre doença periodontal e condições sistêmicas é conhecida e estudada, e o diabetes

mellitus tem sido apontado como importante modificador da periodontite, uma vez que o diabetes *mellitus* exacerba a perda óssea por meio do aumento da reabsorção pela intensidade e duração do infiltrado inflamatório, além das complicações microvasculares e diminuição da neoformação óssea^{11-12,17}.

O diabetes *mellitus* descompensado pode influir na progressão da periodontite do mesmo modo que esta atua como fator complicador do controle metabólico da diabetes *mellitus*, pois a doença inflamatória periodontal pode aumentar a resistência à insulina de maneira similar à obesidade, gerando o que se denomina atualmente uma "via de mão dupla"¹⁸⁻²¹.

O objetivo deste estudo, portanto, foi avaliar as condições periodontais de uma população diabética e compará-las às de indivíduos não diabéticos.

MÉTODOS

Participaram da pesquisa 32 indivíduos diabéticos tipo 2 que se apresentaram à consulta ou estavam em tratamento no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Universitário da Universidade de Taubaté (UNITAU) e 45 indivíduos não diabéticos que procuraram a Clínica Odontológica da UNITAU para tratamento de rotina. Após aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNITAU (protocolo nº 319/02), os participantes terem sido informados e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, procedeu-se à coleta dos dados e ao exame clínico. Todos os participantes deveriam ter pelo menos dez dentes na cavidade bucal e não poderiam ser portadores de imunodeficiência, câncer ou AIDS ou estar sob terapia com corticoide. Os dados obtidos na anamnese e no exame clínico foram registrados em ficha clínica previamente elaborada.

Os indivíduos diabéticos incluídos no estudo eram não controlados (DM tipo 2 NC), segundo a faixa de normalidade da hemoglobina glicada (método de imunoturbidimetria, *Kit* da Roche, valor de referência abaixo de 7%, certificado pela *National Glycohemoglobin Standardization Program* - NGSP)²².

Os indivíduos sem DM foram divididos em dois subgrupos: sem doença periodontal, ou saudáveis, e com doença periodontal.

Para todos os indivíduos participantes da pesquisa, verificaram-se os seguintes parâmetros periodontais:

- Profundidade a Sondagem (PS) obtida por um único examinador previamente calibrado em seis sítios por dente (mésio-vestibular, médio, disto-vestibular e mésio-lingual, médio e disto-lingual), por meio da sonda periodontal manual tipo Williams (Newmar®- São Paulo, Brasil) e mensurada da margem gengival livre até a base da bolsa periodontal;

- Perda de Inserção Clínica (PIC) obtida de todos os sítios examinados por meio da medida da distância da Junção entre Esmalte e Cimento (JEC) até a Margem Gengival (MG), somando-se a medida da profundidade à sondagem. Resumindo: $PIC = PS + (JEC \text{ a } MG)$;

- Número de dentes ausentes.

Após o exame clínico periodontal, os sujeitos foram diagnosticados e classificados como portadores de periodontite crônica leve (PI de 1 a 2mm), moderada (PI de 3 a 4mm) e avançada ($PI \geq 5mm$), de acordo com a Academia Americana de Periodontia²³.

Os dados foram tratados estatisticamente para comparação dos parâmetros periodontais pelos testes Mann Whitney e teste *t* Student, com um nível de confiança de 95%, de acordo com a normalidade de cada grupo.

A fim de avaliar o erro intraexaminador, foram obtidas duas medidas de profundidade de

sondagem dos sítios de 20 indivíduos, com intervalo de uma semana entre as mensurações. Esses valores obtidos de profundidade de sondagem foram submetidos à análise por meio de regressão linear, obtendo-se um valor de $r=0,71986$.

RESULTADOS

O grupo de pacientes diabéticos consistiu de 32 indivíduos na faixa etária de 32 a 73 anos (Média (M) de idade de 53,25, Desvio-Padrão-DP= 9,62). Após o exame periodontal no grupo dos diabéticos, foi verificado que 17 indivíduos (53,1%) apresentavam periodontite crônica leve; 11 (34,4%) periodontite crônica moderada; e 4 (12,5%) periodontite crônica avançada.

O grupo-controle, constituído de 45 indivíduos não diabéticos na faixa etária de 18 a 73 anos, foi dividido em dois subgrupos: sem doença periodontal, ou saudável, (15) e com doença periodontal (30), com média de idade de 32,47, DP=6,53 e M=42,73, DP=13,30, respectivamente. No grupo com DP, 13 (43,3%) apresentavam periodontite crônica leve; 15 (50,0%), periodontite crônica moderada; e dois (6,4%), avançada (Tabela 1).

Para os valores de perda de inserção clínica, não houve diferença significativa entre os grupos dos diabéticos e o grupo com doença periodontal, mas os dois apresentaram diferença significativa quando comparados ao grupo saudável (Tabela 1).

Quanto à comparação do número de dentes ausentes, houve diferença entre o grupo saudável e

Tabela 1. Valores médios de idade, dentes ausentes, profundidade à sondagem e perda de inserção clínica dos indivíduos diabéticos e não diabéticos.

	DM Tipo 2 NC (n=32)		SDP 2 (n=15)		DP (n=30)	
	Média	Desvio-Padrão	Média	Desvio-Padrão	Média	Desvio-Padrão
Idade	53,25	9,62	32,47	6,53	42,73	13,30
DA	12,53	6,46 ^A	3,13	2,35 ^B	8,13	4,86 ^C
PS	2,53	1,03 ^A	1,57	0,17 ^B	3,32	0,84 ^C
PIC	2,99	1,29 ^A	0,15	0,23 ^B	3,33	1,25 ^A

DM Tipo 2 NC: diabetes tipo 2 não-controlado; SDP: sem doença periodontal, DP: doença periodontal; DA: dentes ausentes; PS: profundidade de sondagem; PIC: perda de inserção clínica.

As letras representam diferenças significantes na horizontal.

os outros grupos (o número de dentes ausentes no grupo saudável era muito menor que o dos outros dois grupos), e foi encontrada diferença significativa entre o grupo diabético e o grupo-controle com doença periodontal (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da comparação entre os grupos após tratamento estatístico.

	DA	PS	PIC
DM tipo II NC X SDP	0,0000*	0,0000*	0,0000*
DM tipo II NC X DP	0,0019*	0,0009*	0,1576
SDP X DP	0,0001*	0,0000*	0,0000*

*Diferença estatisticamente significativa.

DM Tipo 2 NC: diabetes tipo 2 não controlado; DP: sem doença periodontal, DP: doença periodontal; DA: dentes ausentes; PS: profundidade de sondagem; PIC: perda de inserção clínica.

DISCUSSÃO

O diabetes *mellitus* é a doença endócrino-metabólica crônica mais comum na população e estima-se que, no Brasil, 11% da população acima de 40 anos sejam diabéticos; os estados do Sul e do Sudeste são os que apresentam maior incidência da doença. Menos de 50% dos pacientes mantêm sua doença adequadamente tratada, e seus portadores podem ter uma redução de aproximadamente 15 anos de vida em decorrência das complicações cardiovasculares²⁴.

A doença periodontal, por sua vez, é altamente prevalente na população mundial, afetando cerca de 90%, incluindo-se tanto os casos de gengivite como periodontite²⁵.

É conhecido que o diabetes *mellitus* tem como uma de suas maiores complicações a doença periodontal. Sabe-se que o bom controle do diabetes *mellitus* pode retardar ou mesmo impedir o aparecimento de suas complicações. A microangiopatia diabética constitui-se o fator determinante de várias alterações sistêmicas que afetam também os vasos da gengiva e levam ao desenvolvimento de gengivite e doença periodontal⁸.

A patogênese da periodontite em indivíduos saudáveis é complexa e multifatorial. Nos diabéticos,

há, além da presença dos fatores locais, como o biofilme dental e microbiota patogênica, as alterações da microcirculação e a resposta de defesa do organismo, que se encontra alterada nesses indivíduos, representada pela diminuição da aderência neutrofílica, quimiotaxia e fagocitose, que podem facilitar a persistência da bactéria na bolsa periodontal e aumentar a destruição periodontal; além disso, há o aumento das citocinas e mediadores da resposta pró-inflamatória pelas células de defesa e a redução da imunidade celular relacionada aos linfócitos e macrófagos^{1,8,10}.

Os diabéticos apresentam, assim, uma resistência diminuída aos processos infecciosos, o que faz com que o processo de destruição dos tecidos periodontais seja mais rápido do que nos indivíduos saudáveis, uma vez que o diabetes *mellitus* aumenta a intensidade e a duração do infiltrado inflamatório, aumenta a reabsorção óssea e dificulta a reparação óssea¹².

Evidências sugerem que a doença periodontal pode induzir e perpetuar um elevado estado inflamatório sistêmico crônico, refletindo um aumento sérico de proteína C reativa, fibrinogênio e interleucinas nas pessoas com periodontite e, assim, similarmente às outras infecções sistêmicas, a infecção periodontal pode induzir à resistência à insulina^{1,26}, apresentando, dessa forma, uma possível explicação para a "via de mão dupla" entre diabetes *mellitus* e doença periodontal.

Ao comparar o estudo de Bulut *et al.*²⁷ com os dados do presente estudo, verificou-se que, naquele estudo, as médias de profundidade à sondagem encontradas foram de 3,84mm para os diabéticos, 3,51mm para os do grupo-controle com doença periodontal e 1,26mm para os saudáveis. Os valores encontrados no presente estudo foram menores: 2,53mm para os diabéticos tipo 2 não controlados, 3,32mm para os não diabéticos com periodontite e 1,57mm para os saudáveis.

Engebretson *et al.*²⁸ verificaram que o valor de perda de inserção clínica nos diabéticos tipo 2 foi de 4,05mm, valor superior ao encontrado neste trabalho: 2,99mm; resultados semelhantes foram encontrados para a profundidade à sondagem: de

3,35mm contra 2,53mm, e para a média de idade dos dois estudos: 54 anos e 53 anos, respectivamente. Poder-se-ia dizer, portanto, que os pacientes estudados por aqueles autores apresentavam doença periodontal mais avançada.

Nos resultados apresentados neste estudo em relação à condição periodontal, verificou-se que a periodontite crônica leve estava presente em 53,1% dos indivíduos diabéticos e em 43,3% dos não diabéticos doentes, enquanto a periodontite crônica avançada estava presente em 12,5% dos diabéticos e 6,6% no grupo-controle com doença periodontal, corroborando o estudo de Löe², que relata que a periodontite avançada ocorre com mais frequência nos indivíduos diabéticos tipo 2 do que nos não diabéticos. A profundidade de sondagem, neste estudo, não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados, corroborando os resultados obtidos por Bulut *et al.*²⁷ e diferindo dos resultados obtidos por Cutler *et al.*²⁹.

Uma dificuldade encontrada no estudo foi a inclusão dos pacientes na pesquisa, uma vez que havia como critério de seleção a necessidade de eles serem portadores de no mínimo dez dentes. Porém, em sua maioria, eles eram desdentados ou tinham menos de dez dentes na cavidade bucal, o que reflete a realidade da condição sociocultural dos indivíduos que procuram atendimento em ambulatórios e clínicas públicas.

Foi encontrada diferença significativa entre o grupo de diabéticos e o de não diabéticos, o que mostra que a PS foi maior neste último e a PIC foi semelhante entre os grupos com periodontite. Podemos verificar neste estudo, portanto, que os indivíduos portadores de doença periodontal com ou sem diabetes *mellitus* apresentaram semelhanças quanto à perda de inserção clínica, apesar do grupo só com doença periodontal apresentar valores maiores na profundidade à sondagem. Isso poderia ser explicado pelo fato de os indivíduos diabéticos apresentarem uma resposta debilitada diante da agressão, tendo como resultado menores valores de PS e um PIC que representa a perda dos tecidos de sustentação do elemento dental semelhante.

Apesar de as médias de idade do grupo de diabéticos e do de não diabéticos com doença pe-

riodontal não apresentarem diferença significativa, o fato de os diabéticos apresentarem mais dentes ausentes pode ser justificado pela presença da doença periodontal ou ainda estar relacionado ao fator cultural em que se opta pela extração dentária em vez de um tratamento mais especializado.

Vale ressaltar que não foi objetivo do presente trabalho avaliar o tempo que o portador de diabetes *mellitus* apresenta a doença, o seu controle rígido ou mesmo a variação da hemoglobina glicada, pois foi um estudo transversal.

No grupo dos não diabéticos, as médias dos três parâmetros apresentaram diferença significativa entre os doentes e os saudáveis. Portanto, sendo a doença periodontal comum na população e sabidamente relacionada a doenças sistêmicas - uma via de mão dupla -, fazem-se necessários estudos cada vez mais profundos para uma melhor compreensão de sua patogênese e para um desenvolvimento de novos caminhos para o controle da doença.

É importante que, à medida que os cirurgiões-dentistas e médicos aumentem seu conhecimento sobre a ligação da periodontite e doenças sistêmicas, eles possam atuar de forma conjunta para um tratamento mais adequado ao seu paciente.

CONCLUSÃO

Após avaliação dos pacientes deste estudo, pode-se concluir que os indivíduos portadores de doença periodontal com ou sem diabetes *mellitus* apresentaram perda de inserção clínica semelhante. Os não diabéticos com periodontite apresentaram uma maior profundidade à sondagem quando comparados aos diabéticos não controlados, e os dados revelaram uma diferença significativa com relação aos dentes ausentes entre diabéticos e não diabéticos, reafirmando que a presença da periodontite é um fator que pode levar à perda dentária.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp - 02/12891-2).

REFERÊNCIAS

1. Mealey BL, Ocampo GL. diabetes *mellitus* and periodontal disease. *Periodontology* 2000. 2007; 44(2):127-53.
2. Løe H. Periodontal disease the sixth complication of diabetes *mellitus*. *Diabetes Care*. 1993; 16(1):329-34.
3. Iacopino AM. Diabetic periodontitis: possible lipid-induced defect in tissue repair through alteration of macrophage phenotype and function. *Oral Dis*. 1995; 1(16):214-29.
4. Gustke CJ. Treatment of periodontitis in the diabetic patient: a critical review. *J Clin Periodontol*. 1999; 26(3):133-7.
5. Garcia RI, Henshaw MM, Krall EA. Relationship between periodontal disease and systemic health. *Periodontology* 2000. 2001; 25(1):21-36.
6. Champagne CME, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal disease. *Periodontology* 2000. 2003; 31(1):167-80.
7. Khader YS, Dauod AS, El-Qaderi SS, Alkafajei A, Batayha WQ. Periodontal status of diabetics compared with nondiabetics: a meta-analysis. *J Diabetes Complications*. 2006; 20(1):59-68.
8. Oliver RC, Tervonen T. Diabetes: a risk factor for periodontitis in adults? *J Periodontol*. 1994; 65(5 Suppl):530-8.
9. Graves DT, Al-Mashat H, Liu R. Evidence that diabetes *Mellitus* aggravates periodontal diseases and modifies the response to an oral pathogen in animal models. *Compend Contin Educ Dent*. 2004; 25(7 Suppl 1):38-45.
10. Verma S, Bhat KM. Diabetes *mellitus*: a modifier of periodontal disease expression. *J Int Acad Periodontol*. 2004; 6(1):13-20.
11. Sadzeviciene R, Paipaliene P, Zekonis P, Zilinskas J. The influence of microvascular complications cause by diabetes *mellitus* on the inflammatory pathology of periodontal tissues. *Stomatologija*. 2005; 7(4): 121-4.
12. Liu R, Bal HS, Desta T, Krothapalli N, Alyassi M, Luan Q, et al. Diabetes enhances periodontal bone loss through enhanced resorption and diminished bone formation. *J Dent Res*. 2006; 85(6):510-4.
13. Armitage GC. Development of classification system for periodontal disease and conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1):1-6.
14. Williams RC. Periodontal disease: the emergence of a new paradigm. *Compend Contin Educ Dent*. 1998. 19(1):4-10.
15. Wactawski-Wende J, Grossi SG, Trevisan M, Genco RJ, Tezal M, Dunfort RG, et al. The role of osteopenia in oral bone loss and periodontal disease. *J Periodontol*. 1996; 67(10):1076-84.
16. Hetz-Mayfield LJ. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(Suppl 6):196-209.
17. Faria-Almeida R, Navarro A, Bascones A. Clinical and metabolic changes after conventional treatment of type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2006; 77(4):591-8.
18. Cohen DW, Rose LF. The periodontal-medic risk relationship. *Compend Contin Educ Dent*. 1998; 19(1):11-24.
19. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes *mellitus*: a two way relationship. *Ann Periodontol*. 1998; 3(1):51-61.
20. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol*. 2001; 6(1):99-112.
21. Mealey BL, Oates TW. diabetes *mellitus* and periodontal diseases. *J Periodontol*. 2006; 77(8): 1289-303.
22. Grupo Interdisciplinar de Padronização da Hemoglobina Glicada - A1C. Atualização sobre hemoglobina glicada (a1c) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. 3ª ed. 2009 [acesso 2010 fev. 20]. Disponível em: <http://www.sbem.org.br/media/fotos/posicionamento_oficial_2009_A1C.pdf>.
23. The American Academy of Periodontology. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1):1-6.
24. Lyra R, Oliveira M, Lins D, Cavalcanti N. Prevenção em diabetes *Mellitus* tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006; 50(2):239-49.
25. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005; 366:1809-20.
26. Doxey DL, Cutler CW, Iacopino AM. diabetes prevents periodontitis-induced increases in gingival platelet derived growth factor-B and interleukin-1 β in rat model. *J Periodontol*. 1998; 69(2):113-9.
27. Bulut U, Develioglu H, Taner IL, Berker E. Interleukin-1 beta levels in gingival crevicular fluid in type2 diabetes *Mellitus* and adult periodontitis. *J Oral Sci*. 2001; 43(3):171-7.
28. Engebretson SP, Hey-Hadavi J, Ehrhardt FJ, Hsu D, Celenti RS, Grbic JT, et al. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1 β and glycemic control in patients with chronic periodontitis and Type 2 diabetes. *J Periodontol*. 2004; 75(9):1203-8.
29. Cutler CW, Machen RL, Jotwani R, Iacopino A. Heightened gingival inflammation and attachment loss in type 2 diabetics with hyperlipidemia. *J Periodontol*. 1999; 70(11):1313-21.

Recebido em: 8/1/2009

Versão final reapresentada em: 10/3/2010

Aprovado em: 23/3/2010

Epilepsia e depressão: aspectos sociodemográficos e clínicos associados

Sociodemographic and clinical factors associated with depression in epilepsy

Gloria Maria de Almeida Souza TEDRUS¹

Lineu Corrêa FONSECA¹

André Luís Ayres da FONSECA²

Rachel Marin CARVALHO²

Emmanuel Machado OLIVEIRA²

RESUMO

Objetivo

Avaliar, em pacientes adultos com epilepsia focal, a ocorrência de depressão e sua relação com variáveis sociodemográficas e clínicas.

Métodos

Foram estudados 87 pacientes adultos (idade média de 44,2 anos) com diagnóstico de epilepsia focal sintomática ou provavelmente sintomática, acompanhados no ambulatório de neurologia clínica do Hospital e Maternidade Celso Pierro da Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Foram realizados anamnese, exame clínico-neurológico e aplicação da Escala de Depressão de Hamilton. Foi estudada a relação dos aspectos sociodemográficos e clínicos com a ocorrência de depressão. Foram utilizados testes estatísticos, com nível de significância $p < 0,05$.

¹ Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Faculdade de Medicina. Av. Jonh Boyd Dunlop, s/n., Prédio Administrativo, Jd. Ipaussurama, 13090-950, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: G.M.A.S. TEDRUS. E-mail: <gmteprus@uol.com.br>.

² Bolsistas de iniciação científica FAPIC/Reitoria, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Faculdade de Medicina. Campinas, SP, Brasil.

Resultados

Cinquenta e três pacientes apresentaram depressão conforme a Escala de Depressão de Hamilton (leve em 42, moderada em 8, e grave em 3 casos). Foi observada maior ocorrência de depressão entre as mulheres e em pacientes com epilepsia do lobo temporal com esclerose hipocampal (análise de regressão $p < 0,05$). Não foram observadas relações estatisticamente significativas entre as outras variáveis clínicas e a ocorrência de depressão.

Conclusão

A depressão é frequente em pacientes com epilepsia e pode ser um fator de impacto, na qualidade de vida, por vezes mais importante do que a frequência das crises. O presente estudo sugere a existência de fatores sociodemográficos e biológicos associados à depressão. O conhecimento adequado desses fatores pode ter importância nas estratégias de diagnóstico e de atenção ao portador de epilepsia.

Termos de indexação: Adultos. Depressão. Epilepsia sintomática. Incidência.

ABSTRACT

Objective

This study aimed to evaluate the occurrence of depression and its relationships with sociodemographic and clinical factors in adult patients with focal epilepsy.

Methods

A total of 87 adult patients (age = 44.2 standard deviation=14.8 years) were assessed using medical history, neurological evaluation and Hamilton depression scale. They had symptomatic or probably symptomatic focal epilepsy. The relationships between depression in the Hamilton depression scale and sociodemographic and clinical aspects were studied. Statistical tests were done with the significance level set at $p < 0.05$.

Results

Fifty-three patients had depression in the Hamilton depression scale (mild in 42 cases, moderate in 8, and severe in 3 cases). Depression was more prevalent in women and in temporal lobe epilepsy patients with hippocampus sclerosis (regression analysis, $p < 0.05$). There were no significant statistical relationships among the other clinical variables and the presence of depression.

Conclusion

Depression is common among patients with focal epilepsy and may impact quality of life more than the frequency of seizures. The present study suggests the existence of sociodemographic and biological factors associated with depression. Good knowledge of these factors can be important for the diagnostic and care strategies provided to epilepsy patients.

Indexing terms: *Depression. Epilepsy. Incidence.*

INTRODUÇÃO

Epilepsia é uma condição neurológica crônica caracterizada por crises epilépticas recorrentes, causadas pela atividade neuronal excessiva no cérebro,

usualmente autolimitada. As epilepsias têm etiologias diversas, englobam várias síndromes com diferentes tipos de crises e podem ter repercussões psicossociais em parte provocadas pela natureza imprevisível e incontrolável da sintomatologia epiléptica.

Distúrbios psiquiátricos em geral e depressão e sintomas depressivos em particular são as mais frequentes comorbidades em indivíduos com epilepsia¹⁻⁴.

Os pacientes com epilepsia apresentam maior incidência de depressão quando comparados à população geral^{5,6} e a indivíduos com outras doenças crônicas⁷.

A prevalência de depressão é estimada entre 20% e 55% nos indivíduos com epilepsias refratárias e entre 3% a 9% naqueles com crises controladas^{1-3,8}. Essa grande variação nas taxas de prevalência de depressão em pacientes com epilepsia pode ser explicada, em parte, pela utilização, nos diferentes estudos, de distintos instrumentos e métodos de diagnóstico e pelas características da população estudada^{2,5,9,10}.

Alguns estudos sugerem que a depressão e a epilepsia tenham uma base neurobiológica em comum, com envolvimento de estruturas anatômicas e de neurotransmissores similares nas duas condições^{11,12}. Entretanto, a despeito dos avanços científicos no campo das neurociências, o elo etiológico entre os dois quadros ainda não foi completamente esclarecido¹².

A manifestação depressiva em pacientes com epilepsia pode ser atípica e, assim, pouco diagnosticada e tratada^{6,12-15}. Diante das dificuldades de estabelecer critérios diagnósticos dos quadros psiquiátricos ligados à epilepsia, a Comissão de Neuropsiquiatria da *International League Against Epilepsy* (ILAE) elaborou uma proposta para classificar os distúrbios psiquiátricos que ocorrem em comorbidade e/ou exclusivamente nas síndromes epilépticas¹⁶.

Em nosso meio ainda há carência de dados para identificar os fatores associados à depressão em pacientes com epilepsia¹⁷. O conhecimento de tais fatores pode trazer subsídios para aperfeiçoar estratégias diagnósticas e de intervenção na atenção desses pacientes.

O objetivo desse estudo foi avaliar a ocorrência de depressão em pacientes adultos com epilepsias sintomáticas e estudar sua relação com aspectos clínicos e sociodemográficos.

MÉTODOS

Foram incluídos neste estudo, no período de agosto de 2007 a julho de 2008, pacientes com diagnóstico de epilepsia focal sintomática ou provavelmente sintomática, segundo a Classificação Internacional das Epilepsias e Síndromes Epilépticas¹⁸, provenientes do ambulatório de neurologia clínica do Hospital e Maternidade Celso Pierro (PUC-Campinas).

Foram excluídos os indivíduos com *deficit* cognitivo, com dificuldades para compreender as questões do questionário - Escala de Depressão de Hamilton - e aqueles com outras doenças crônicas incapacitantes concomitantes.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisa em seres humanos da PUC-Campinas (protocolo nº 715/06). Os pacientes assinaram o termo de consentimento.

Foram realizados os seguintes procedimentos:

1. Anamnese para avaliar aspectos sociodemográficos e clínicos quanto à idade, ao gênero, à escolaridade, ao estado civil, à situação ocupacional, ao tipo de crise e de epilepsia, à idade de início, à frequência de crises, ao tempo de evolução da epilepsia, ao uso de droga antiepiléptica e quanto ao antecedente de lesão cerebral. Foram levantados, dos prontuários, os dados do eletrencefalograma e da ressonância e/ou tomografia computadorizada de crânio.

2. Foi aplicado um questionário semiestruturado para caracterização de depressão.

3. Escala de Depressão de Hamilton (HAM-D)¹⁹. Esse questionário, que complementa a avaliação clínica e é frequentemente utilizado em pesquisa, é uma escala de depressão para quantificar a presença e a gravidade de sintomas por meio de critérios objetivos preestabelecidos²⁰.

4. Exame clínico-neurológico.

Para este estudo os pacientes foram classificados quanto à síndrome epiléptica em epilepsia de lobo temporal ou epilepsias de outras localizações, de acordo com os critérios da Classificação Internacional das Epilepsias e Síndromes Epilépticas¹⁸. Entre

os pacientes com epilepsia de lobo temporal, foi composto um subgrupo com epilepsia temporal com esclerose hipocampal, caracterizada pelos aspectos clínicos e pela presença de atrofia do hipocampo presentes na ressonância de crânio.

A epilepsia foi considerada controlada nos casos em que não tiver havido crises nos últimos 12 meses.

Os pacientes foram classificados nos seguintes grupos quanto à escolaridade: analfabeto, básico incompleto ou completo e fundamental incompleto ou completo.

Em relação ao estado civil, os sujeitos foram classificados em dois grupos: 1) solteiros ou casados; 2) viúvos, separados ou divorciados.

Quanto à depressão, os pacientes foram classificados segundo o escore da HAM-D: "sem depressão" com o escore inferior a 7 e "com depressão" com o escore 7 ou superior. A depressão foi considerada leve (escore entre 7 e 17), moderada (de 18 a 24) ou grave (escore acima de 24)²⁰.

Foi estudada a relação entre aspectos sociodemográficos (idade, escolaridade, estado civil e situação ocupacional) e clínicos (síndrome epiléptica, controle das crises, tempo de epilepsia, idade de início, número de drogas antiepilépticas) com a ocorrência de depressão.

Para a análise estatística foram utilizados o teste *t* e qui-quadrado bicaudais e a análise de regressão logística para determinar os fatores associados à depressão segundo a Escala de Hamilton. Foi utilizado o programa *Statistical Packages for Social Sciences* (SPSS, versão 10.0) e nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram avaliados 87 pacientes (49,4% do gênero feminino) com idade média de 44,2 anos (DP=14,8) (Tabela 1). Onze pacientes (12,6%) eram analfabetos, 47 (54,0%) tinham até 8 anos de escolaridade formal, 9 (10,3%), de 8 a 11 anos e 20 (23,0%), mais de 11 anos de escolaridade.

Trinta e um pacientes (35,6%) eram solteiros, 39 (44,8%) casados e 17 (19,5%) eram viúvos, divorciados ou separados (Tabela 1). Quanto à situação ocupacional, 19 (21,8%) pacientes eram estudantes ou donas de casa, 17 (19,5%) estavam afastados do trabalho ou aposentados, 39 (44,8%) empregados e 12 (13,8%) desempregados.

A epilepsia tinha duração prolongada, com média de 20,2 anos (Desvio-Padrão-DP=12,5) de duração e com crises mensais em 37 (42,5%) dos casos (Tabela 2).

Tabela 1. Aspectos sociodemográficos e ocorrência de depressão (n=87) na escala HAM-D.

Aspectos sociodemográficos	(Desvio-Padrão)		Depressão (escala HAM-D)			
			Sem		Com	
			n	%	n	%
Números total de casos (%)			34	39,1	53	60,9
<i>Gênero</i>						
Masculino (n)*			23	52,2	21	47,7
Feminino (n)*			11	25,5	32	74,4
<i>Estado civil</i>						
Solteiros ou casados*			30	42,8	40	57,1
Viúvos, separados ou divorciados*			4	23,5	13	76,4
<i>Faixa etária</i>						
	<i>M</i>	<i>DP</i>	<i>M</i>	<i>DP</i>	<i>M</i>	<i>DP</i>
Idade (anos)	44,2	14,8	44,1	15,0	44,4	14,5
Idade 1ª crise	23,3	16,6	23,0	16,1	25,2	20,8

* Teste χ^2 ; $p < 0,05$ (valor significativo).

Conforme resultados da HAM-D, 53 pacientes (60,9%) apresentaram depressão: 42 de grau leve (48,3%), 8 de grau moderado (9,2%) e 3 de grau grave (3,4%). Trinta e quatro pacientes não apresentaram depressão (Tabela 1).

Em 13 casos foi possível caracterizar depressão no questionário semiestruturado específico. Foi observada concordância significativa entre a caracterização de depressão pela escala HAM-D e a obtida pelo questionário semiestruturado específico (χ^2 , $p=0,001$).

Relação entre depressão e aspectos sociodemográficos e clínicos

Houve de modo estatisticamente significativo maior número de casos de depressão entre as mulheres (χ^2 , $p=0,01$). A ocorrência de depressão entre os dois grupos de indivíduos - solteiros ou casados e viúvos ou separados ou divorciados - apresentou diferença estatisticamente significativa, com maior ocorrência de depressão no segundo grupo (χ^2 , $p=0,035$) (Tabela 3).

Tabela 2. Aspectos clínicos e ocorrência de depressão na escala HAM-D.

Aspectos clínicos	Casos (n)	Depressão (escala HAM-D)			
		Sem		Com	
Tempo de epilepsia (anos)	M=20,2 (DP=12,5)	M=20,36 (DP=12,82)		M=19,30 (DP=9,99)	
	n	n	%	n	%
<5 anos	9	3	33,3	6	66,6
6-50 anos	78	30	38,5	48	61,5
<i>Tipo de crise epiléptica</i>					
Focal complexa	55	20	36,3	35	66,3
Focal simples	15	8	53,3	7	46,6
Focal com gen/TCG	17	6	35,2	11	64,7
<i>Frequência de crises</i>					
sem crises há um ano	34	14	41,1	20	37,7
1 a 12 meses sem crises	16	8	23,5	8	15,0
mensal ou + crises	37	12	35,2	25	47,1
<i>Números de drogas anti-epilépticas</i>					
Única	53	22	41,5	31	58,4
Mais de uma	34	12	35,2	22	64,7
<i>Síndrome epiléptica</i>					
Com EMT	19	3	15,7	16	84,2
Sem EMT	68	31	45,5	37	54,4

* Teste χ^2 ; $p<0,05$, EMT: esclerose mesial temporal.

Tabela 3. Odds ratio ajustado para efeitos de gênero e esclerose mesial temporal e ocorrência de depressão na escala de HAM-D.

Variável	Odds ratio ¹	Intervalo de confiança 95%	Valor de p
<i>Gênero</i>			
Masculino ²	1,0		
Feminino	0,321	0,127 - 0,816	0,017
<i>Esclerose mesial</i>			
Ausente ²	1,0		
Presente	0,231	0,060 - 0,895	0,034

¹ ajustado para as outras variáveis da tabela; ² categoria de referência.

Não houve diferença significativa na ocorrência de depressão em relação à idade do paciente, situação ocupacional, escolaridade, idade na primeira crise, tempo de epilepsia, síndrome epiléptica, controle das crises e número de drogas antiepilépticas utilizadas, assim como não houve diferença significativa entre gravidade da depressão e tipo de crise epiléptica.

O achado de esclerose mesial temporal esteve associado ao maior percentual de ocorrência de depressão (χ^2 , $p=0,01$) (Tabela 2). Não houve diferença significativa entre lateralidade da lesão (EMT-EH à direita ou à esquerda) e ocorrência de depressão (χ^2 , $p>0,05$).

Na análise de regressão logística entraram na equação, de modo significativo, o gênero e a esclerose mesial temporal. Houve associação entre gênero feminino e presença de esclerose mesial temporal com depressão, caracterizada pela escala de Hamilton.

DISCUSSÃO

A presente casuística foi constituída de pacientes adultos com epilepsias focais (sintomática ou provável sintomática), com tempo médio de doença de 20,2 anos.

Em acordo com a literatura, foi constatada depressão em proporção importante dos casos^{2,3,4,8}. Predominou a presença de sintomas depressivos leves (cerca de 50% dos casos).

Entre os fatores individuais associados à depressão, constatou-se, de modo estatisticamente significativo (teste do qui-quadrado), e semelhante ao descrito em alguns estudos^{21,22}, que a depressão ocorre mais frequentemente em indivíduos viúvos, separados ou divorciados. No entanto, na presente casuística, o fator estado civil não atingiu significância estatística na análise de regressão.

Houve maior taxa de depressão em mulheres. É sabido que na população a depressão ocorre mais em mulheres e particularmente naquelas portadoras

de morbidades^{5,6}. Em epilepsia, ao contrário, homens tenderiam a risco maior de apresentar depressão¹², o que não foi confirmado em outras séries²².

Não foi observada relação entre depressão e idade do paciente. É sabido que a prevalência de transtornos depressivos em mulheres com e sem epilepsia declina com a idade e, no entanto, parece estável nos homens⁶. Outros estudos sugerem que nas epilepsias, pacientes do gênero masculino e de maior idade sofrem menos de distúrbios psiquiátricos, como, por exemplo, depressão^{7,8}.

Não foi constatada relação entre nível educacional e situação laboral e ocorrência de depressão. É sabido que os pacientes com epilepsias que apresentam comorbidades psiquiátricas são os que, em geral, tendem a ter menor escolaridade e mais altos índices de desemprego²³. Outros autores encontraram relação significativa entre emprego e maior escolaridade e menores índices de depressão²².

Vários estudos têm discutido a associação entre depressão e aspectos clínicos com resultados contraditórios ou inconclusivos². Nessa casuística não houve associação significativa entre o tipo de crise epiléptica e a presença de depressão. Alguns autores sugerem que isso, em parte, poderia ser explicado pelo fato de a depressão não ser consequência direta da crise epiléptica, mas da dificuldade de lidar com a imprevisibilidade das crises, das restrições nas atividades cotidianas, da baixa autoestima e de estigma e rejeição social a que frequentemente estão sujeitos alguns pacientes^{11,24,25}.

Outros estudos sugerem que a depressão esteja relacionada com o caráter crônico, com a gravidade da epilepsia^{25,26}, com as epilepsias refratárias ou com aquelas com lesão bitemporal^{5,16,27}; entretanto há poucas evidências dessas relações causais²⁶.

Encontramos relação estatisticamente significativa entre esclerose mesial temporal e depressão. Esse achado já foi referido em alguns trabalhos^{5,15,25}. Contudo outros estudos ainda questionam se há maior ocorrência de depressão na esclerose mesial temporal do que em outras epilepsias do lobo temporal²⁸.

O risco de desenvolver depressão é maior na epilepsia do lobo temporal e em outras epilepsias focais extratemporais quando comparado ao das epilepsias generalizadas primárias^{1,5,15}, e a possível explicação é o envolvimento de estruturas límbicas^{5,8,15,16,27}.

Estudos recentes^{25,29} descreveram evidências de correlação entre a gravidade dos sintomas depressivos na epilepsia do lobo temporal e o volume da amígdala, mas não com o grau de dano no hipocampo, como descrito anteriormente¹¹.

Não foi encontrada, na presente pesquisa, relação entre lateralidade hemisférica da epilepsia do lobo temporal e depressão, de modo semelhante a outros estudos^{17,28}. Foi sugerido, em algumas publicações^{8,11}, embora não confirmado em outras mais recentes^{8,12,25}, que a epilepsia do lobo temporal do hemisfério esquerdo poderia estar mais frequentemente associada à depressão.

Não houve correlação entre o número de drogas antiepilépticas utilizadas e ocorrência de depressão. Schmidt & Löscher³⁰ apontam que a presença de sintomas depressivos estaria ligada a drogas específicas, principalmente as com propriedades gabaérgicas.

Este estudo é transversal, com uma amostra reduzida de sujeitos atendidos em serviço terciário de epilepsia, e assim apresenta limitações. Entretanto vários achados corroboram estudos anteriores, suscitam discussão e sugerem a necessidade de melhor compreensão e avaliação de sintomas depressivos, pois a depressão é a mais frequente comorbidade, com grande impacto negativo na qualidade de vida^{2,3,24}.

A complexa relação neurobiológica bidirecional entre epilepsia e depressão, sustentada por mecanismos fisiopatológicos comuns, e os vários aspectos psicossociais envolvidos devem ser sempre levados em consideração no diagnóstico do paciente com epilepsia e na atenção a ele dedicada¹².

CONCLUSÃO

Foi observado índice elevado de depressão, principalmente de grau leve, nos pacientes com epi-

lepsias focais. Houve maior ocorrência de depressão nas mulheres e nos pacientes com esclerose mesial temporal.

Não houve, neste estudo, correlação entre depressão e outros aspectos clínicos e sociodemográficos, como tempo de epilepsia e da última crise, tipo e controle das crises epilépticas.

REFERÊNCIAS

1. Gilliam F, Hecimovic H, Sheline Y. Psychiatric comorbidity, health and function in epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2003; 4(Suppl. 4):26-30.
2. Kanner AM. Depression in epilepsy: a frequently neglected multifaceted disorder. *Epilepsy Behav.* 2003; 4(Suppl. 4):11-9.
3. Johnson EK, Jones JE, Seidenberg M, Hermann BP. The relative impact of anxiety, depression, and clinical seizure features on health-related quality of life in epilepsy. *Epilepsia.* 2004; 45(5):544-50.
4. van Elst LT, Trimble MR. Depression but not seizure frequency predicts quality of life in treatment-resistant epilepsy. *Neurology.* 2004; 63(5):942-3.
5. Gaitatzis A, Carroll K, Majeed A, Sander JW. The epidemiology of the comorbidity of the epilepsy in the general population. *Epilepsia.* 2004; 45(12):1613-22.
6. Tellez-Zenteno JF, Patten SB, Jetté N, Williams J, Wiebe S. Psychiatric comorbidity in epilepsy: a population-based analysis. *Epilepsia.* 2007; 48(12):2336-44.
7. Swinkels WA, Kuyk J, van Dyck R, Spinhoven P. Psychiatric comorbidity in epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2005; 7(1):37-50.
8. Hermann BP, Seidenberg M, Bell B. Psychiatric comorbidity in chronic epilepsy: identification, consequences, and treatment of major depression. *Epilepsia.* 2000; 41(Suppl. 2):31-41.
9. Maturura M, Oana Y, Kato M, Kawana A, Kan R, Kubota H, *et al.* A multicenter study on the prevalence of psychiatric disorders among new referrals for epilepsy in Japan. *Epilepsia.* 2003; 44(1):107-14.
10. Gomes MM. Aspectos epidemiológicos das comorbidades psiquiátricas em epilepsia. *J Epilepsy Clin Neurophysiol.* 2008; 14(4):162-70.
11. Kanner AM. Depression in epilepsy: a neurobiologic perspective. *Epilepsy Curr.* 2005; 5(1):21-7.
12. Oliveira BLMB, Parreiras MS, Doretto MC. Epilepsia e depressão: falta diálogo entre a neurologia e a psiquiatria. *J Epilepsy Clin Neurophysiol.* 2007; 13(3):109-13.

13. Loring DW, Meador KJ, Lee GP. Determinants of quality of life in epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2004; 5(6): 976-80.
14. Lee SA, Yoo HJ, Lee BI. Factors contributing to the stigma of epilepsy. *Seizure.* 2005; 14(3):157-63.
15. Quiske A, Helmstaedter C, Lux S, Elger CE. Depression in patients with temporal lobe epilepsy is related to mesial temporal sclerosis. *Epilepsy Res.* 2000; 39(2): 121-5.
16. Krishnamoorthy ES, Trimble MR, Blumer D. The classification of neuropsychiatric disorders in epilepsy: a proposal by the ILAE commission on psychobiology of epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2007; 10(3):349-53.
17. Alonso NB, Silva TI, Westphall AC, Azevedo AM, Caboclo LOSF, Ciconelli RM, *et al.* Sintomas depressivos e qualidade de vida em indivíduos com epilepsia por esclerose mesial temporal. *J Epilepsy Clin Neurophysiol.* 2005; 11(3):117-22.
18. Engel Jr J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia.* 2001; 42(6):796-803.
19. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960; 23(1):56-62.
20. Blacker D. Psychiatric rating scales. In Sadock B, Sadock V. *Comprehensive textbook of psychiatry.* 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. v.1, p.755-83.
21. Thompson AW, Miller JW, Katon W, Chaytor N, Clechanowski P. Sociodemographic and clinical factors associated with depression in epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2009; 14(4):655-60.
22. Reisinger EL, Dilorio C. Individual, seizure-related, and psychosocial predictors of depressive symptoms among people with epilepsy over six months. *Epilepsy Behav.* 2009; 15(2):196-201.
23. Strine TW, Kobau R, Chapman DP, Thurman DJ, Price P, Balluz LS. Psychological distress, comorbidities, and health behaviors among US adults with seizures: result from 2002 National Health Interview Survey. *Epilepsia.* 2005; 46(7):1133-9.
24. Boylan LS, Flint LA, Labovitz DL, Jackson SC, Starner K, Devinsky O. Depression but not seizure frequency predicts quality of life in treatment-resistant epilepsy. *Neurology.* 2004; 62(2):258-61.
25. Briellmann RS, Hopwood MJ, Jackson GD. Major depression in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: a clinical and imaging correlates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007; 78(11):1226-30.
26. Cramer JA, Blum D, Reed M, Fanning K. The influence of comorbid depression on seizure severity. *Epilepsia.* 2003; 44(12):1578-84.
27. Marchetti RI, Azevedo DJ, Campos CMB, Kurcgant D, Fatima AMH. Volumetric evidence of a left laterality effect in epileptic psychosis. *Epilepsy Behav.* 2003; 4(3):234-40.
28. Richardson EJ, Griffith HR, Martin RC, Paige AL, Stewart CC, Jones J, *et al.* Structural and functional neuroimaging correlates of depression in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2007; 10(2):242-9.
29. Araujo Filho GM, Rosa VP, Caboclo LOSF, Sakamoto AC, Yacubian EMT. Prevalence of psychiatric disorders in patients with mesial temporal sclerosis. *J Epilepsy Clin Neurophysiol.* 2007; 13(1):13-6.
30. Schmidt D, Löscher W. Drug resistance in epilepsy: putative neurobiologic and clinical mechanisms. *Epilepsia.* 2005; 46(6):858-77.

Recebido em: 28/1/2010

Versão final reapresentada em: 22/3/2010

Aprovado em: 26/3/2010

Comportamento de ratos imobilizados na posição de 90° do tornozelo e submetidos à estimulação elétrica muscular

*Behavior of rats with ankle immobilized at 90°
submitted to electric muscle stimulation*

Carlos Alberto da SILVA¹
Rinaldo Roberto de Jesus GUIRRO²
Reinaldo MACEDO JUNIOR³
Juliana LIBARDI³

RESUMO

Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas comportamentais em ratos submetidos a cinco dias de imobilização articular por meio de órtese de resina acrílica e estimulados eletricamente.

Métodos

Avaliou-se o comportamento de deslocamento no teste de campo aberto e no labirinto em cruz elevado. Utilizaram-se oito ratos Wistar de três meses, alimentados com ração e água *ad libitum* sob ciclo de 12 horas claro/escuro e divididos em quatro grupos: controle, imobilizado, estimulado eletricamente e imobilizado estimulado eletricamente. Na avaliação estatística, utilizaram-se ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). Para amostragem, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/Kg/ip), o sangue foi coletado da veia renal e o plasma foi isolado para avaliação da concentração plasmática de corticosterona por meio de ELISA.

¹ Universidade Metodista de Piracicaba, Faculdade de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia. Rod. do Açúcar, Km 156, Campus Taquaral, 13400-901, Piracicaba, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: C.A. SILVA. E-mail: <casilva@unimep.br>.

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Ribeirão Preto, Curso de Fisioterapia, Departamento Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor. Ribeirão Preto, SP, Brasil.

³ Fisioterapeutas. Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Apoio: Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (processo nº 2008/50533-7).

Resultado

O grupo-controle apresentou redução no campo aberto e baixa concentração de concentração plasmática de corticosterona; o grupo imobilizado mostrou redução no campo aberto e elevação na concentração plasmática de corticosterona. O grupo estimulado eletricamente não se diferenciou do controle, e o grupo imobilizado estimulado eletricamente apresentou aumento na atividade no campo aberto quando comparado ao imobilizado. No labirinto em cruz elevado, foi observado que a imobilização aumentou a ansiedade, efeito que ocorreu em menor intensidade no grupo imobilizado estimulado eletricamente.

Conclusão

Os resultados mostram que a limitação funcional induzida pela imobilização reduz as respostas comportamentais no campo aberto e gera ansiedade e que a estimulação elétrica promoveu elevação nas respostas comportamentais e menor ansiedade, o que pode estar relacionado à melhora nas condições metabólicas da musculatura.

Termos de indexação: Comportamento. Imobilização. Labirinto em cruz elevado. Ratos.

ABSTRACT

Objective

The objective of this study was to evaluate the behavior (exploratory activity in open field) and anxiety indexes (elevated plus maze) of rats submitted to 5 days of immobilization with an acrylic resin orthosis and session of electric stimulation.

Methods

Three-month-old Wistar rats obtained from the Methodist University of Piracicaba animal facility, were kept under controlled laboratory conditions, with water and rodent chow ad libitum and a 12h light/dark cycle and divided into 4 groups: control, immobilized, electrically stimulated, and immobilized and electrically stimulated, n=8. Statistical analysis was done by ANOVA and the Tukey test ($p<0.05$). The rats were anesthetized (sodium pentobarbital 50mg/kg, ip), a blood sample was collected and the plasma separated in order to evaluate plasmatic concentration of corticosterone by the ELISA method.

Results

The control group demonstrated a reduction in exploratory activity in the open field test and a low concentration of plasmatic corticosterone, while the immobilized group displayed reduced exploratory activity in the open field and elevated plasmatic concentration of corticosterone. In this sense, the electrically stimulated group was not different from the control, while the immobilized and electrically stimulated groups demonstrated an increase in exploratory activity in the open field in comparison with the immobilized group. In the elevated plus maze analysis, the immobilized group showed an elevation in anxiety indexes, which was less intense in the immobilized and electrically stimulated group.

Conclusion

The results illustrate that immobilization reduces exploratory activity in the open field and generates anxiety, while electrical stimulation improved exploratory activity in the open field and reduced anxiety. This can be related to improvement in the metabolic conditions of the musculature.

Index terms: Behavior. Immobilization. Plus maze. Rats.

INTRODUÇÃO

Os modelos animais são fundamentais para a pesquisa, pois mimetizam algumas características elementares de um estado patológico específico, favorecem sua compreensão e o desenvolvimento de terapias eficazes, fornecem uma aproximação simplificada dos complexos fatores relacionados à patologia, reduzindo o número de variáveis cujo controle é inacessível, e permitem, assim, maior grau de controle experimental e manipulações que seriam impossíveis em outras circunstâncias¹.

Diversos fatores ambientais podem determinar adaptações bem como implementar comportamentos específicos; assim, embora haja uma pequena variação de uma espécie para outra, os comportamentos emocionais, como evitação e imobilismo, permanecem os mesmos e constituem a base para a classificação dos comportamentos ao longo da evolução biológica. Com base nisso, emoções como medo e expectativa são representadas por redes neurais inatas que coordenam as estratégias comportamentais, permitindo aos animais interagirem com mudanças contínuas no ambiente².

Têm sido desenvolvidos diferentes métodos que permitem quantificar a atividade locomotora de ratos. Nesse sentido, os parâmetros que quantificam o padrão de movimentação no campo aberto estão relacionados com a frequência de amostragem, a resolução espacial, a relação entre o tamanho do animal e a área do aparato experimental, a distância do deslocamento, o tempo de permanência em cada região do campo e a velocidade do movimento³.

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) faz parte do rol de testes indicados na avaliação do comportamento de ratos, sendo útil na pesquisa de comportamento animal⁴. O LCE se baseia na medida de todas as categorias comportamentais que refletem o conflito resultante da tendência de os animais explorarem ambientes desconhecidos e evitarem situações potencialmente perigosas, sendo um dos testes mais empregados no estudo da ansiedade⁵.

Diferentes fatores podem propiciar a prescrição de imobilização durante um processo de

reabilitação, merecendo destaque as entorses, as lesões nos membros inferiores, fraturas ósseas, rupturas ligamentares ou doenças degenerativas das articulações. Em tais circunstâncias, é inevitável a diminuição da amplitude de movimentos das articulações e o aparecimento de hipotrofia⁵.

Recentemente foi desenvolvido um modelo de órtese de metacrilato de etila aplicado para ratos no estudo de fenômenos ligados à imobilização muscular e verificaram-se alterações quimiometabólicas e histológicas de caráter diferenciado e de acordo com a posição articular e o período de desuso⁶.

A Estimulação Elétrica (EE) funcional dos músculos é um recurso frequentemente utilizado na atividade fisioterapêutica. Tem sido verificado que inúmeros sistemas celulares são ativados em decorrência da terapia, destacando-se a integração entre as vias sinalizadoras celulares e as dinâmicas metabólicas, ativação ou inibição de vias específicas, mantendo o músculo um tanto mais ativo e saudável⁷. Segundo Vanderthommen & Crielaard⁸, a EE é frequentemente usada para fortalecer o músculo normal, mas na área médica vários pesquisadores têm ressaltado o seu valor no tratamento da hipotrofia. Apesar de essa técnica não substituir a ação fisiológica dos fatores neurotróficos, ela é uma estratégia com ação aditiva na recuperação sensorio-motora devido a efeitos como aumento de força e volume muscular, redução da espasticidade e rigidez, melhora da circulação sanguínea e plasticidade neural. A EE é, portanto, indicada em casos de fraqueza muscular, distensão muscular, incontinença, elevação ou perda do tônus muscular⁹⁻¹¹.

Em virtude da frequência com que a EE é utilizada na prática clínica, há uma grande importância no desenvolvimento de trabalhos que determinem a influência desse procedimento na recuperação das condições energéticas comprometidas pelo desuso. Modelos experimentais têm sido desenvolvidos com o intuito de estudar a adaptação muscular durante a imobilização, havendo sugestões de que as alterações mais relevantes da atrofia ocorram nos dias iniciais da imobilização¹²⁻¹⁴.

A proposta deste trabalho foi avaliar, por meio dos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado, o comportamento de ratos submetidos à imobilização articular na posição de 90° do tornozelo e à EE.

MÉTODOS

Foram utilizados oito ratos albinos *Wistar* com três meses de idade, adquiridos da empresa ANILAB®, alimentados com ração (Purina® para roedores) e água *ad libitum*, submetidos a ciclos fotoperiódicos de 12 horas claro/escuro e distribuídos em quatro grupos experimentais: controle (C), imobilizados durante cinco dias (I), estimulados eletricamente durante cinco dias (E) e imobilizados e estimulados eletricamente durante cinco dias (IE). O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da UFSCar (protocolo 015/2006).

Após anestesia com pentobarbital sódico (50mg/kg, i.p.), a pata posterior esquerda dos animais foi tricotomizada e imobilizada com o modelo de órtese de resina acrílica⁶ (Figura 1).

Nos protocolos de avaliação comportamental, os animais foram diariamente expostos ao campo aberto sempre no início da noite, período de maior atividade da espécie, permaneceram no ambiente durante três minutos e foram filmados e posteriormente avaliados. No teste do labirinto em cruz elevado, os animais foram expostos ao teste somente no fim do período experimental, e observados durante cinco minutos, conforme o modelo descrito por Pellow *et al.*⁵. No protocolo de EE, o membro inferior esquerdo foi tricotomizado para garantir maior efetividade da estimulação, e os eletrodos foram posicionados na região anterior e posterior da coxa, estimulando os músculos sóleo e gastrocnêmio (Figura 2). A sessão de EE teve início logo após a imobilização, obedecendo os seguintes parâmetros: estimulação elétrica diária de 20 minutos, na frequência de 10Hz, largura de fase de 0,4ms, intensidade da corrente padronizada em 5,0mA a partir da visuali-

zação da contração muscular¹¹. A cada cinco minutos o aparelho foi ajustado acrescentando 1,0mA à corrente para minimizar a acomodação. O equipamento utilizado para a estimulação elétrica neuromuscular foi o Dualpex 961 (QUARK®) com eletrodos de silicone-carbono de 1cm² cada um (Figura 2).

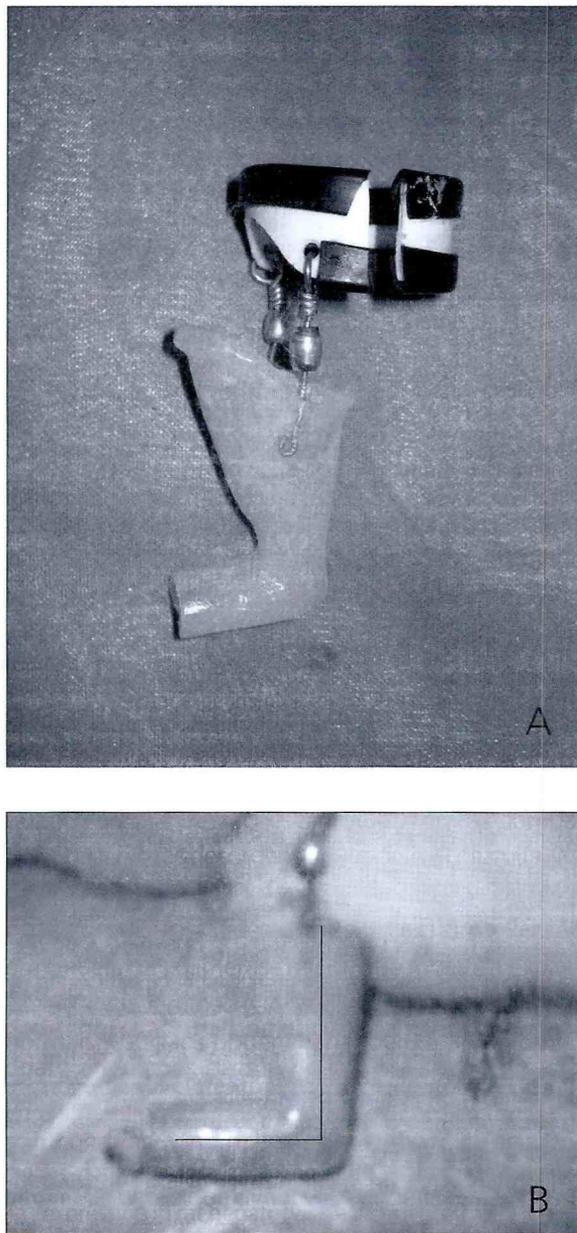


Figura 1. A) Modelo de órtese utilizado na imobilização, B) Adaptação da órtese no membro posterior do animal mantendo a articulação do tornozelo em 90°.

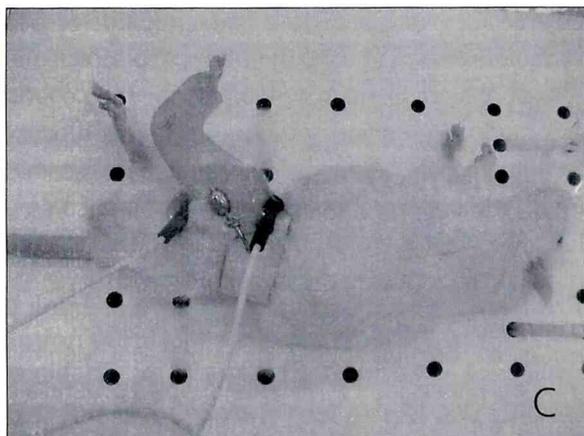


Figura 2. Posicionamento de eletrodos durante a sessão de estimulação elétrica.

Para amostragem, os animais foram anestesiados, uma alíquota de sangue coletada da veia renal foi centrifugada e o plasma foi encaminhado para análise da concentração plasmática de corticosterona por ELISA (BIORAD - diagnósticos) e da glicemia pelo método enzimático calorimétrico

(CELM - reactoclin). Na avaliação estatística foram utilizados ANOVA e teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Foi observado que os ratos do grupo-controle apresentaram redução progressiva no deslocamento exploratório, atingindo 25% no índice de deambulação na transição do 1º para o 2º dia, redução de 36% no 3º, 4º e 5º dia, ocasião em que o índice de deslocamento manteve-se constante, indicando adaptação. Cabe ressaltar que o grupo submetido à estimulação elétrica não diferiu do controle. Já o grupo submetido à imobilização manifestou redução no índice de deslocamento, não sendo verificada diferença nesse parâmetro nos cinco dias de análise; porém, quando comparado ao grupo-controle, foi observada uma expressiva redução, atingindo 68,9%, 55,2%, 54%, 61,5%, 63,8%, respectivamente, do 1º ao 5º dia de análise, fato que mostra inibição no comportamento exploratório (Figura 3).

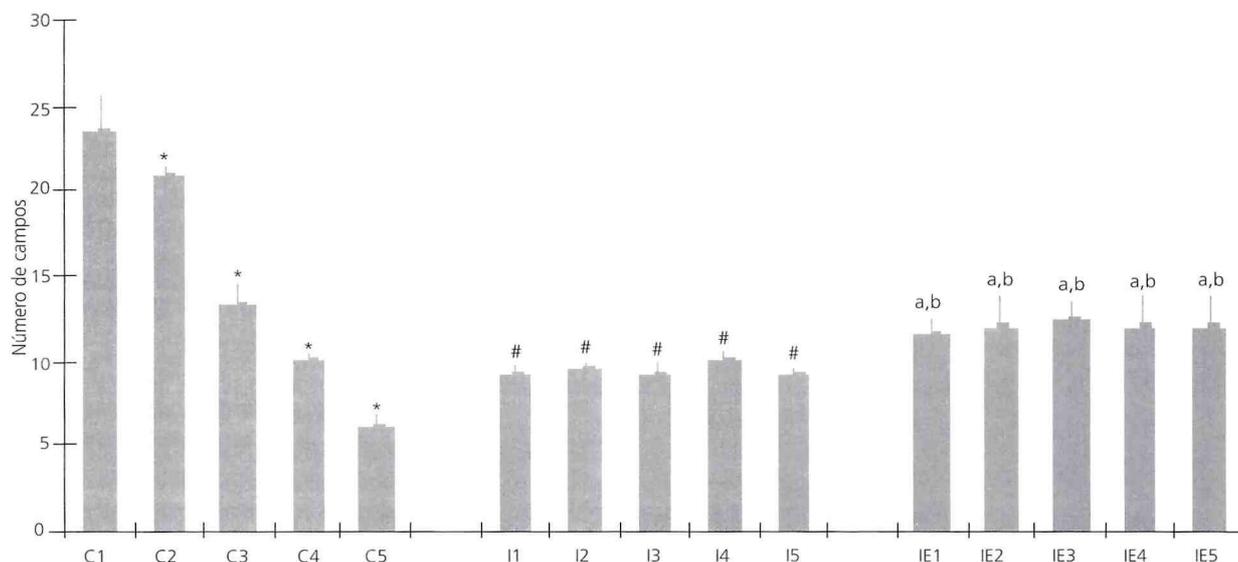


Figura 3. Número de campos deslocados no campo aberto dos grupos-controle (C), imobilizado (I) e imobilizado estimulado eletricamente (E). Os valores correspondem à média ± epm, n=6.

Nota: * $p < 0,05$ se comparado ao dia antecedente no grupo-controle, # $p < 0,05$ na comparação do grupo imobilizado com o controle; a: difere do grupo-controle; b: difere do grupo imobilizado.

Tabela 1. Comportamento dos ratos do grupo-controle (C), imobilizados (I), estimulados eletricamente (E) e imobilizados estimulados eletricamente (IE) submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado (LCE) durante 5 dias consecutivos.

Movimentação no LCE	C		I		E		IE	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
Tempo no braço aberto (%)	24,2	1,1	9,70	1,30*	23,20	1,40	32,50	6,60
Entrada no braço aberto (%)	3,39	0,09	1,13	0,05*	3,19	0,10	2,56	0,10
Entrada no braço fechado (n)	3,18	0,09	4,28	0,10	2,85	0,20*	1,36	0,10 [#]
Idas ao final do braço aberto (n)	3,46	0,10	3,02	0,40	3,52	0,20	1,16	0,01 [#]
Avaliação de risco	4,01	0,08	2,22	0,07*	3,95	0,20	2,52	0,02 [#]

Os valores correspondem à média±epm, n=6, * $p<0,05$ se comparados ao controle e [#] $p<0,05$ se comparados ao imobilizado.

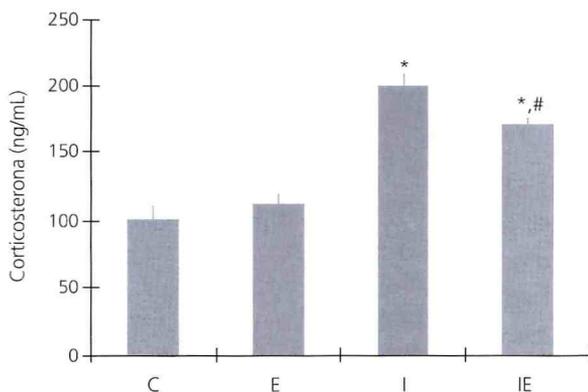


Figura 4. Concentração plasmática de corticosterona (ng/mL) dos ratos do grupo-controle (C), estimulados eletricamente (E), imobilizados (I) e imobilizados estimulados eletricamente (IE) após o teste de campo aberto durante 5 dias consecutivos.

Nota: Os valores correspondem à média±epm, n=6, * $p<0,05$ se comparados ao controle e [#] $p<0,05$ se comparados ao imobilizado.

O mesmo perfil de análise foi realizado no grupo imobilizado submetido à estimulação elétrica e verificou-se que o índice de deslocamento exploratório nesse grupo foi em média 38% maior do que o do grupo imobilizado, mas não se atingiram os valores observados no grupo-controle, persistindo a limitação no comportamento.

Com relação à concentração plasmática de corticosterona, o grupo estimulado eletricamente não diferiu do controle; os grupos imobilizado e imobilizado estimulado eletricamente diferem entre si e apresentam, respectivamente, concentrações médias 100% e 70% maiores que a do controle (Figura 4).

Foi avaliado o comportamento dos ratos submetidos ao LCE (Tabela 1). Os dados referentes à exploração dos braços abertos no LCE mostram que o grupo imobilizado apresentou redução de 135% na porcentagem de tempo de permanência no braço aberto, efeito também observado na porcentagem de entrada no braço aberto, que teve redução de 66,6% ($p<0,05$). A mesma tabela apresenta o efeito da imobilização sobre o número de entradas no braço fechado: foi observada elevação de 34,5%, acompanhada de elevação de 45% ($p<0,05$) na avaliação de risco. Cabe salientar que não houve diferença nas idas ao final do braço aberto.

A mesma análise, agora direcionada ao comportamento dos ratos imobilizados e estimulados eletricamente, mostrou elevação de 34% na porcentagem de tempo no braço aberto, 126% na porcentagem de entrada no braço aberto e 13% na avaliação de risco. Esse comportamento foi acompanhado de redução de 68% no número de entrada no braço fechado e 61% no número de idas ao final do braço aberto ($p<0,05$).

DISCUSSÃO

Várias teorias acerca de índices comportamentais de animais têm sido construídas, sendo considerada como comportamento exploratório a expressão da curiosidade espontânea nos animais². Neste estudo, o comportamento de ratos-controle submetidos ao campo aberto apresentou grande atividade exploratória nos dias iniciais da exposição ao meio, seguida de uma adaptação progressiva, representada pela redução na atividade ao longo

dos cinco dias de avaliação. Nesse sentido, sabe-se que o substrato neural de tal comportamento é representado por redes neurais inatas que coordenam as estratégias comportamentais, permitindo aos animais interagirem com mudanças contínuas no ambiente e aprendizagem topográfica independentemente de recompensa³.

Muitas teorias foram propostas para explicar o comportamento exploratório dos ratos; dentre elas há referências que partem de conceitos simplistas ligados à existência de um impulso exploratório nato da espécie até teorias homeostáticas que se fundamentam no fato de os ratos explorarem buscando atingir níveis de gasto energético adequado à sobrevivência, e, para isso, diferentes sensações são desencadeadas no intuito de obter maiores informações acerca do ambiente¹⁵. Cabe ressaltar que os parâmetros comportamentais de animais de laboratório merecem maiores estudos para determinação de um padrão.

A adaptação diante da exposição constante ao campo aberto está relacionada com a ativação da função do sistema septo-hipocampal, que compara os dados sensoriais que o hipocampo recebe do córtex entorrinal com as predições geradas no circuito de PAPEZ, que desempenhava um papel importante na elaboração comportamental¹⁶.

O grupo imobilizado submetido à EE apresentou índices menores - que indicam medo e ansiedade - quando comparado ao grupo somente imobilizado. Isso sugere que a terapia, ao ter induzido uma melhora nas condições energéticas da musculatura, possa ter propiciado mudanças comportamentais, uma vez que o animal manifestou aumento na capacidade de locomoção. Para essa proposta, trabalhos demonstraram melhora nas condições metabólicas associadas à EE^{11,13}. Outro fator relacionado à redução da ansiedade é o aumento do desempenho cognitivo.

O LCE é considerado um instrumento útil e válido para medir ansiedade, investigações de aspectos comportamentais, fisiológicos e farmacológicos^{17,18}. Foi observado que o comportamento do grupo imobilizado submetido ao campo aberto apresentou redução significativa no comportamento

exploratório, podendo haver relação com o sistema de inibição comportamental constituído pela formação septo-hipocampal, associado a outras estruturas cerebrais, como os córtices pré-frontal e cingulado, tálamo anteroventral e corpos mamilares. Esse sistema responde a estímulos novos através da supressão do comportamento¹⁸. A ativação desses sistemas resulta na inibição de qualquer atividade que o animal esteja exercendo, levando, no extremo, à imobilidade tensa ou congelamento. Tal inibição comportamental é acompanhada do aumento de vigilância e da atenção para perigos potenciais. Esse estado foi identificado nos animais imobilizados e em menor escala no grupo imobilizado estimulado eletricamente.

O perfil endócrino do grupo imobilizado mostrou elevação significativa na concentração plasmática de corticosterona, indicando elevação na atividade do eixo-hipotálamo-hipófise-adrenal, que pode servir de medida objetiva de ansiedade e medo^{19,20}. Temos, assim, que o aumento na concentração plasmática do hormônio adrenocorticotrófico induz a liberação de corticosterona das adrenais. Tanto o hormônio adrenocorticotrófico quanto os corticoides atuam no sistema nervoso central, modulando o comportamento emocional^{19,21}.

Nesse sentido, os resultados deste estudo são expressivos, pois revelam que ratos imobilizados expostos ao LCE apresentam elevação na concentração plasmática de corticosterona similar àqueles expostos uma única vez, indicando que se trata principalmente de uma alteração no estado emocional do animal em vez de uma simples habituação. Esses dados contrastam com outros modelos animais, que indicam habituação após a reexposição²².

É importante, finalmente, considerar que os ratos imobilizados manifestaram redução na porcentagem de tempo nos braços abertos e na entrada nesses braços, indicando ansiedade a fatores que acompanharam elevação no número de entradas no braço fechado e na avaliação de risco. Esses dados refletem dois sistemas neurais que medeiam a reação dos animais: o sistema cerebral de defesa, acionado em situações de conflito ou de perigo iminente, e o sistema de inibição comportamental²². Por fim, foi observado que o grupo de ratos imobilizados e subme-

tidos à EE apresentou alterações nos parâmetros comportamentais em menor instância do que aqueles imobilizados e não estimulados, fato indicativo da existência de relações funcionais entre os ajustes neuroquímicos e a modulação do comportamento.

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem a existência de alterações fisiológicas e comportamentais ligadas à imobilização muscular e caracterizadas pela redução da atividade exploratória e pelo desenvolvimento de ansiedade, o que pode acompanhar a limitação imposta pelo desuso. A EE, no entanto, promoveu melhora nos parâmetros comportamentais, podendo estar relacionada à melhora nas condições metabólicas da musculatura.

REFERÊNCIAS

- Andersen ML, D'Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJF, Magalhães LE, *et al.* Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo: Unifesp; 2004.
- Zangrossi HJR, File SE. Behavioral consequences in animal tests of anxiety and exploration of exposure to cat odor. *Brain Res Bull.* 1992; 29(3-4):381-8.
- Rousseau JBI, Gispen WH, Spruijt BM. A comparison of various analysis parameters of locomotion patterns of rats in an open field. *Proceeding of the 2nd. International Conference on Methods and Techniques in Behavioral Research*; 1998; Ganingen, Netherlands; 1998. p.1-2.
- Schmitt U, Hiemke C. Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. *Pharmacol Biochem Behav.* 1998; 59 (4):807-11.
- Pellow S, Chopin P, File S, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rats. *J Neurosci Methods.* 1985, 14:49-67.
- Silva CA, Guirro RRJ, Polacow MLO, Durigan JLQ. Proposal for rat hindlimb joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. *Braz J Med Biol Res.* 2006; 39:979-85.
- Robinson AJ, Snyder-Mackler L. *Eletrofisiologia clínica.* 2a. ed. Porto Alegre: Artmed; 2001.
- Vanderthommen M, Crielaard JM. Électromyostimulation en médecine du sport. *Rev Med Liege.* 2001; 56(5): 391-5.
- Mela V, Veltink PH, Huijting PA. Excessive reflexes in spinal cord injury triggered by electrical stimulation. *Arch Physiol Biochem.* 2001; 4:309-15.
- Sköld C. Effects of functional electrical stimulation training for six months on body composition and spasticity in motor complete tetraplegic spinal cord injury. *J Rehabil Med.* 2002; 34:25-32.
- Guirro RRJ, Silva CA, Forti F. Análise do músculo esquelético desnervado tratado com metformina e/ou estimulação elétrica de baixa frequência. *Rev Bras Fisioter.* 2004; 8:21-27.
- Guirro RRJ, Dias CKN, Silva CA. Imobilização altera o conteúdo de glicogênio e peso muscular de acordo com o período e a posição articular. *Rev Bras Fisioter.* 2005; 9(2):173-9.
- Forti F, Guirro RRJ, Silva CA. Efeitos da glutamina e da estimulação elétrica sobre o perfil metabólico de músculos desnervados. *Rev Bras Edu Fís Esp.* 2004; 18(3):273-81.
- Qin L, Appell HJ, Chan KM, Maffulli N. Electrical stimulation prevents immobilization atrophy in skeletal muscle of rabbits. *Arch Phys Med Rehabil.* 1997; 78:512-7.
- Renner MJ, Seltzer CP. Characteristics of exploratory and investigatory behavior in the rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Physiol.* 1991; 1051:326-39.
- Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol Psychiatr.* 1937; 38:725-43.
- Anseloni VZ, Brandão ML. Ethopharmacological analysis of behavior of rats using variations of the elevated plus-maze. *Behav Pharmacol.* 1997; 8:533-40.
- Graeff FG. Neuroanatomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. *Braz J Med Biol Res.* 1994; 27(4):811-29.
- Pauli JR, Gomes RJ, Luciano E. Eje hipotálamo-pituitario: efectos del entrenamiento físico en ratas Wistar con administración de dexametasona. *Rev Neurol.* 2006; 42:325-31.
- Treit D, Menard J, Royan C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993, 44:463-9.
- File SE, Johnston AL, Baldwin HA. Anxiolytic and anxiogenic drugs: change in behaviors and endocrine responses. *Stress Med.* 1988; 4:221-30.
- File SE, Peet LA. Sensitivity of the rat corticosterone response to environmental manipulation and to chronic chlordiazepoxide treatment. *Physiol Behav.* 1980, 25:753-8.

Recebido em: 5/2/2009

Versão final reapresentada em: 23/2/2010

Aprovado em: 8/3/2010

Homocisteína e risco cardiovascular

Homocysteine and cardiovascular risk

Wagner de Jesus PINTO¹

Miguel Arcanjo AREAS²

José Eduardo de MARIALVA²

Silvana Maria Guida CARDOSO²

Elisabete Graissimberg PINTO²

RESUMO

Numerosos estudos epidemiológicos têm demonstrado que a hiper-homocisteinemia é um forte e independente fator de risco para o desenvolvimento da doença vascular. A hiper-homocisteinemia pode ser decorrente da deficiência de enzimas envolvidas no metabolismo desse aminoácido ou de seus cofatores (vitaminas). Várias hipóteses têm sido propostas para explicar o mecanismo celular que envolve a hiper-homocisteinemia e a doença vascular, como o estresse oxidativo. Os fatores de risco convencionais para doenças vasculares, como a aterosclerose, incluem hipercolesterolemia, hipertensão arterial, diabetes *mellitus* e tabagismo, que respondem por aproximadamente 50% dos casos. Evidências indicam atualmente que a hiper-homocisteinemia ocorre em aproximadamente 5% a 7% da população em geral e que é um importante fator de risco independente para o desenvolvimento da aterosclerose. No Brasil, a doença vascular é responsável por mais de 300 mil mortes por ano e corresponde a 16% dos gastos do Sistema Único de Saúde. Contudo mais de 40% dos pacientes diagnosticados com doença coronária prematura, vascular periférica ou trombose venosa recorrente apresentam hiper-homocisteinemia. Nessa revisão, serão abordadas as condições que conduzem à hiper-homocisteinemia, tais como fatores genéticos e nutricionais, e os mecanismos pelos quais a hiper-homocisteinemia

¹ Universidade Federal do Acre. Campus Universitário Reitor Áulio Gélvio Alves de Souza. Rod. BR 364, km 4, nº 6637, Distrito Industrial, 69915-900, Rio Branco, AC, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: W.J. PINTO. E-mail: <wagner.wjp@gmail.com>.

² Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. Campinas, SP, Brasil.

potencializa o desenvolvimento da aterosclerose. O presente trabalho foi desenvolvido por meio de revisão sistemática da literatura nacional e internacional pelo indexador MedLine/PubMed, utilizando os unitermos: homocisteína, cardiovascular, risco, aterosclerose, radicais livres.

Termos de indexação: Aterosclerose. Doenças cardiovasculares. Hiper-homocisteinemia. Homocisteína. Óxido nítrico.

ABSTRACT

Numerous epidemiological studies have demonstrated that hyperhomocysteinemia is a strong and independent risk factor for cardiovascular disease. Hyperhomocysteinemia can result from a deficiency of the enzymes or vitamin cofactors required for homocysteine metabolism. Several hypotheses have been proposed to explain the cellular mechanisms by which hyperhomocysteinemia promotes cardiovascular disease, including oxidative stress. Conventional risk factors for cardiovascular disease, including hypercholesterolemia, hypertension, smoking and diabetes mellitus, account for approximately 50% of all cases. Evidence now indicates that hyperhomocysteinemia, which occurs in approximately 5 to 7% of the general population, is an important, independent risk factor for atherosclerosis and thrombotic disease. In Brazil, they are responsible for the death of 300 thousand people/year and they correspond to 16% of the expenses of the Unified Healthcare System (SUS). Furthermore, up to 40% of patients diagnosed with premature coronary artery disease, peripheral vascular disease or recurrent venous thrombosis have hyperhomocysteinemia. In this review article, we will summarize the genetic and nutritional factors that induce hyperhomocysteinemia and further examine the clinical evidence implicating hyperhomocysteinemia as an independent risk factor for cardiovascular disease. In addition, potential mechanisms by which homocysteine accelerates atherosclerosis will be discussed in light of the important findings recently reported. This study was based on a systematic review of the national and international literature found in the databases MedLine/PubMed using the key words: homocysteine, cardiovascular risk, atherosclerosis, free radicals.

Indexing terms: Atherosclerosis. Cardiovascular disease. Hyperhomocysteinemia. Homocysteine. Nitric oxide.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares permanecem a principal *causa mortis* nos países desenvolvidos; no Brasil, são responsáveis pela morte de 300 mil pessoas/ano e correspondem a 16% dos gastos do Sistema Único de Saúde (SUS). Uma conduta que leve à redução da ingestão de colesterol, à manutenção dos níveis de pressão arterial em valores adequados e ao abandono do tabagismo tem sido apontada como efetiva na prevenção da doença cardiovascular.

Contudo esses clássicos fatores de risco e outros ainda considerados não modificáveis, como

sexo, idade, histórico familiar, não explicam plenamente por que uma determinada população desenvolve doença cardiovascular e outra não¹⁻⁶. De fato, de 30% a 35% dos indivíduos portadores de doenças cardiovasculares apresentam normocolesterolemia. E, dentre esses, a hiper-homocisteinemia parece apresentar particular interesse na comunidade científica. Numerosos estudos epidemiológicos mostram que concentrações plasmáticas aumentadas de homocisteína têm sido associadas ao aumento de aterosclerose e trombose vascular e que mais de 40% dos pacientes com doença primária da artéria coronária, cerebrovascular ou vascular periférica apresentam hiper-homocisteinemia^{8,9}. A homocisteína é

um tioaminoácido formado durante o metabolismo da metionina, aminoácido essencial presente nas proteínas da dieta¹⁰.

Embora a homocisteína tenha sido descoberta em 1952¹¹, foi somente em 1979 que McCully¹² descreveu trombose arterial extensa e aterosclerose grave em duas autópsias de crianças portadoras de hiper-homocisteinemia e homocisteinúria³. Com base nessas observações, o autor propôs que a hiper-homocisteinemia poderia causar doença vascular aterosclerótica. Diversas evidências experimentais sugerem que a propensão à aterosclerose esteja associada à hiper-homocisteinemia e numerosos mecanismos têm sido propostos¹³, tais como: a) a hiper-homocisteinemia cria um ambiente oxidativo uma vez que sofre autooxidação; nessa situação, grupos sulfidril de moléculas de homocisteína reagem entre si, produzindo espécies reativas de oxigênio, como o ânion hidroxil¹⁴, que, a seu curso, interagem com o óxido nítrico vascular, impedindo seus efeitos vasoativos e oxidam o LDL-colesterol, condição importante para a gênese das placas ateromatosas; b) a estimulação da proliferação das células da musculatura lisa vascular^{2,15}; c) a maior propensão à formação de trombos decorrente da redução dos fatores anticoagulantes e do aumento dos fatores agregantes plaquetários decorrente da injúria endotelial¹⁶.

Metabolismo da homocisteína

A Homocisteína (Hcy) é um aminoácido não essencial que não está presente na dieta humana e nem nas proteínas do organismo, uma vez que não há códons específicos para sua transcrição. É um aminoácido sulfurado, produto da transmetilação da metionina com peso de 135¹⁷ e que segue duas grandes vias metabólicas. Quando a metionina encontra-se em excesso, a homocisteína é direcionada para a via da transulfuração, onde é irreversivelmente sulfoconjugada à serina por meio da enzima cistationina β-sintase em um processo que requer vitamina B₆ como cofator (Figura 1). O ciclo da transulfuração ocorre principalmente no fígado e nos rins e forma ao final cisteína.

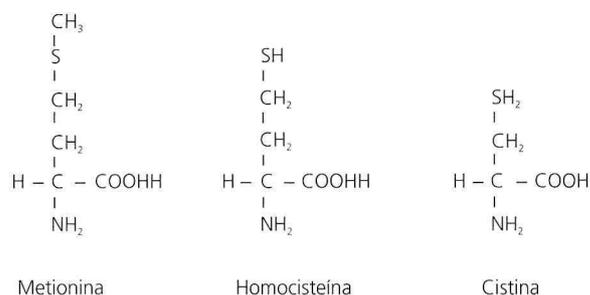


Figura 1. Estruturas dos aminoácidos metionina, homocisteína e cistina.

Contudo, em condições em que ocorre balanço negativo de metionina, a homocisteína pode ser remetilada. Na remetilação, a homocisteína adquire um grupo metil de N⁵-metiltetra-hidrofolato (N⁵MTHF) ou de betaína para formar metionina. A síntese de N⁵MTHF é dependente da enzima metiltetra-hidrofolato Redutase (MTHFR)¹⁸. Essa via ocorre em muitos tecidos, é conhecida como ciclo do folato e requer um suprimento adequado de vitamina B₁₂ e ácido fólico¹⁹ (Figura 2). Assim sendo, a via da transmetilação permite a recuperação da metionina de modo que a homocisteína contribui, ao mesmo tempo, para sua manutenção (metionina e homocisteína são precursoras uma da outra). Distúrbios em qualquer etapa desse metabolismo ou mesmo *déficit* de cofatores das enzimas envolvidas no ciclo conduzem à elevação de homocisteína no plasma²⁰.

As funções essenciais do ciclo da homocisteína de modo geral incluem o fornecimento de metionina para síntese proteica, a reciclagem do metiltetra-hidrofolato, o metabolismo da colina (via betaína), e a geração de precursores para reações de metilação (S-adenosilmetionina), formação de poliaminas (S-adenosilmetionina), e biossíntese de cisteína (via homocisteína)²¹. O grupo tiol confere à homocisteína diversas interações com outros elementos do plasma de modo que aproximadamente 70% da homocisteína circulam ligadas a proteínas plasmáticas, formando pontes dissulfeto com essas proteínas; 25% condensam-se por oxidação mediante a formação de uma ponte dissulfeto e dão origem ao dímero de homocistina; o restante (menos que 5%) está presente no plasma, combinado a

outros tióis, incluindo cistina, formando assim uma mistura de homocisteína-cisteína²² (Figura 3). Na América do Norte, o termo homocisteína é muitas vezes utilizado para referir-se ao *pool* de homocisteína circulante no plasma e, na Europa, utiliza-se a referência *tHcy*²².

Determinação da homocisteína plasmática e valores de referência

Os métodos de determinação dos níveis plasmáticos de homocisteína começaram a desenvolver-

-se em meados da década de 1980, mediante técnicas relativamente complexas e de alto custo que, em geral, consistem em²³: a) gerar homocisteína livre por redução das pontes dissulfeto pela utilização de diferentes agentes redutores; b) separar a homocisteína de outros metabólitos de baixo peso molecular com grupos tióis por meio de cromatografia líquida de alta resolução e de cromatografia gasosa capilar; c) determinar a homocisteína por meios eletroquímicos, espectrofotometria de massa ou mesmo fluorimetria, ou d) mesmo utilização de anticorpos monoclonais por meio de imunensaio.

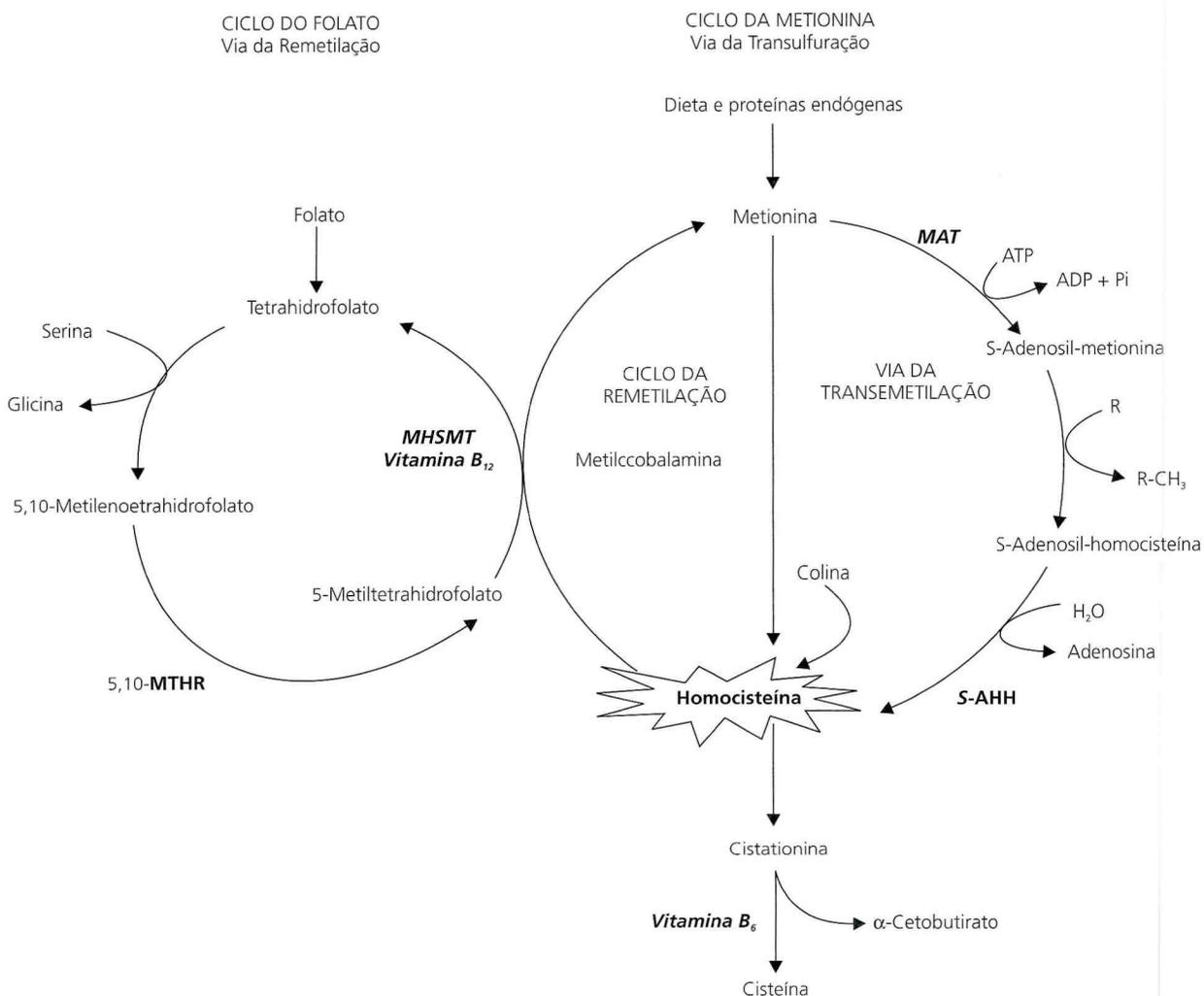


Figura 2. Via metabólica da homocisteína.

Nota: MTHR: 5,10-Metilenoetrahydrofolato redutase; MHSMT: 5-Metiltetra-hydrofolato-homocisteína S-metiltransferase; R: receptor de metil; R-CH₃: receptor metilado; MAT: metionina-adenosil-transferase.

Contudo, uma simples e barata técnica de imunoensaio tem-se tornado comercialmente disponível e pode rapidamente tornar-se popular na avaliação plasmática da homocisteína em laboratórios clínicos²⁴. A definição de hiper-homocisteinemia em uma dada população é realizada usando um ponto de corte arbitrário - por exemplo, acima do percentil 30, similar aos métodos iniciais utilizados na avaliação dos níveis plasmáticos de colesterol e hipertensão arterial. De acordo com alguns autores, os limites plasmáticos adequados de homocisteína oscilam entre 5 e 15 $\mu\text{mol/L}$ ²⁵; já outros defendem que tais níveis devam variar de 9 a 10 $\mu\text{mol/L}$ ²⁶. Valores iguais ou maiores que 16 $\mu\text{mol/L}$ são, arbitrariamente, denominados de hiper-homocisteinemia, que pode ser moderada (16-30 $\mu\text{mol/L}$), intermediária (31-100) ou grave (> que 100 $\mu\text{mol/L}$)²⁷.

Causas da hiper-homocisteinemia

Em geral aceita-se que os determinantes da hiper-homocisteinemia são complexos e incluem fatores diversos, tais como caráter demográfico, genético, decorrente de *deficits* de compostos nutricionais e aqueles relacionados ao estilo de vida (Tabela 1)²⁸. Diversos fatores congênitos podem desencadear hiper-homocisteinemia, tais como o distúrbio genético provocado por deficiência homo-

zigótica de cistationina β -sintase, responsável pelo aparecimento em crianças de aterosclerose difusa, doença coronariana, doença vascular periférica e acidente vascular cerebral com prognóstico negativo. A deficiência heterozigótica de cistationina β -sintase (CBS) ou de metilenetetrahidrofolato redutase (MTHFR), enzima envolvida na remetilação de homocisteína em metionina, conduz à elevação apenas moderada de níveis de homocisteína, no entanto com risco significativamente aumentado de doença cardiovascular por ausência de uma terapêutica adequada²⁹. Embora esses erros genéticos sejam extremamente raros (ocorrendo em um em cada 150 mil nascidos-vivos), eles acabam por compor um modelo humano de injúria vascular desencadeado pelo homocisteína. De fato, McCully & Wilson³⁰, propuseram a "teoria aterogênica da homocisteína" com base nas características clínicas e patológicas presentes nessas alterações genéticas em que o aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína desencadeia disfunção endotelial, proliferação de células lisas vasculares e distúrbios da coagulação. No final da década de 1980, identificou-se uma variante termolábil da enzima MTHFR (Δ -MTHFR) com atividade reduzida, causada por uma mutação pontual (677 C \rightarrow T) que gera uma substituição em um resíduo de valina por um de alanina³¹.

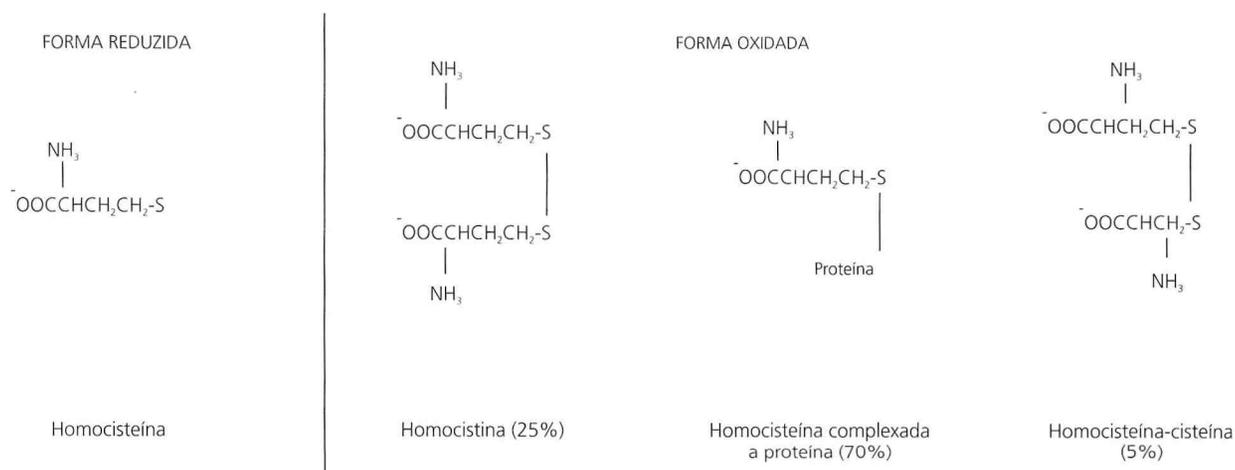


Figura 3. Formas em que a homocisteína está presente no plasma e suas respectivas porcentagens.

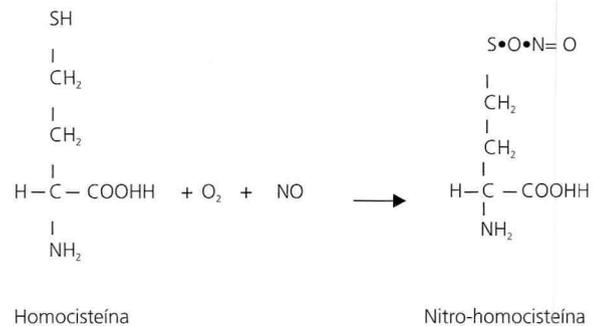
Quadro 1. Fatores que podem desencadear hiper-homocisteinemia.

Mutações e deficiências enzimáticas	Deficiências vitamínicas e condições dietéticas	Características demográficas	Condições clínicas	Medicamentos (Drogas)
a) Cistationina β-sintase b) Metionina sintase c) Metileno-tetra-hidrofolato redutase d) Cobalamina (mutações)	a) Folato b) Vitamina B ₆ c) Vitamina B ₁₂ d) Aumento da ingestão de metionina	a) Idade avançada b) Sexo masculino c) Tabagismo d) Sedentarismo e) Menopausa f) Etilismo	a) Insuficiência renal b) Lúpus eritematoso c) Neoplasias malignas d) Psoríase severa e) Hipotireoidismo f) Diabetes <i>mellitus</i> g) Transplantes	a) Anticonvulsivantes (Fenitoína, carbamazepina) b) Antagonistas do folato (metotrexato) c) Antagonistas da vitamina B ₁₂ (óxido nítrico) d) Antagonistas da vitamina B ₆ e) Agentes hipocolesterolêmicos (colestipol, colestiramina, ácido nicotínico) f) Tiazídicos diuréticos g) Ciclosporina h) Sulfasalazina i) Contraceptivos orais

Essa mutação tem sido identificada em 38% dos franco-canadenses, em 5 a 15% da população geral do Canadá e em 25 a 39% de outro grupos populacionais³², mas em somente 10% dos afro-americanos³³. Os homozigóticos para essa condição descrevem homocisteinemia moderada e tem-se relacionado tal estado a defeitos no tubo neural³⁴.

A homocisteína como fator aterogênico - possíveis mecanismos de injúria vascular

Evidências experimentais em ratos, camundongos e macacos sugerem que a hiper-homocisteinemia desencadeie injúria endotelial, levando à ativação plaquetária e à formação de trombos³⁵⁻³⁷. Disfunções endoteliais também ocorrem em humanos portadores de hiper-homocisteinemia decorrente de sobrecarga oral de metionina, sendo o grau de prejuízo endotelial nessa condição similar ao observado na hipercolesterolemia e hipertensão arterial³⁸. Um dos mecanismos pelo qual a homocisteína interfere na homeostase endotelial é por meio da inativação das propriedades vasodilatadoras do óxido nítrico, um radical livre gasoso produzido pelas células endoteliais^{39,40}. Nesse caso, o óxido nítrico reage com o grupo sulfidríla da homocisteína na presença de oxigênio, dando origem a S-Nitro-homocisteína²² (Figura 4).

**Figura 4.** Formação de nitro-homocisteína na presença de oxigênio e óxido nítrico.

A redução da bioatividade do óxido nítrico pode contribuir para a trombogênese e aterogênese uma vez que essa molécula é inibidora da agregação plaquetária e adesão leucocitária³². As causas da redução da bioatividade do óxido nítrico durante a hiper-homocisteinemia parecem ser multifatoriais⁴¹. O volume de evidências experimentais oriundas de modelos animais, entretanto, sugere que o estresse oxidativo induzido pela hiper-homocisteinemia parece ser o fator preponderante⁴². Diversas espécies reativas de oxigênio, incluindo superóxido (O₂⁻), hidroxil (OH^{*}) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) podem reagir com o óxido nítrico, interferindo na sua atividade vasodilatadora; no entanto o ânion superóxido parece ser o mais ativo nesse aspecto. De fato, Dayal *et al.*³⁷ mostraram que a vasodilatação de arteríolas cerebrais, induzida pela acetilcolina em camundongos

alimentados com dietas ricas em metionina, foi restaurada na vigência da administração de um antioxidante efetivo para superóxidos, sugerindo que esse radical livre seja o maior mediador da disfunção endotelial na hiper-homocisteinemia.

Estudos mostram que a produção vascular de ânions superóxidos pode ser bastante reduzida por meio da administração de apocinina, um inibidor da NADPH-oxidase, o que também sugere um papel significativo desse sistema no estresse oxidativo vascular⁴³. Outro mecanismo pelo qual o ânion superóxido pode interferir na homeostasia endotelial é quando da combinação com o óxido nítrico. Nesse processo, forma-se o ânion citotóxico peróxinitrito (ONNO^-), que é altamente reativo e pode causar oxidação da tetra-hidrobiopterina (BH_4), um cofator importante da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), promovendo desacoplamento dessa enzima e de seu cofator. Nessa condição, a eNOS pode produzir mais ânions superóxido que óxido nítrico⁴⁰. Alguns autores defendem a hipótese de que a homocisteína promova desacoplamento da eNOS; tal proposição é apoiada por experimentos farmacológicos nos quais utilizou-se um potente inibidor da eNOS, *N* ω -nitro-arginina metil éster (L-NAME) (Figura 5), que, por sua vez, foi capaz de bloquear a produção de ânions superóxidos, induzida pela homocisteína em cultura de células endoteliais e também em camundongos⁴⁴.

Outra evidência que demonstra a disfunção endotelial oxidativa mediada pela hiper-homocisteinemia foi obtida por meio de estudos com camundongos com alterações na expressão genética da

enzima glutatona peroxidase (Gpx)⁴³. Camundongos homozigotos com deficiência na expressão de Gpx apresentam moderado prejuízo na atividade vasodilatadora em aórtica na ausência de hiper-homocisteinemia, contudo essa disfunção torna-se extremamente severa na presença de hiper-homocisteinemia⁴³.

Um estudo complementar demonstrou que a superexpressão transgênica de Gpx protege camundongos hiper-homocisteinêmicos de danos endoteliais⁴³, de modo que esses achados estabelecem um papel decisivo da Gpx na prevenção de injúrias endoteliais mediadas por estresses oxidativos em condições de moderada hiper-homocisteinemia *in vivo*. Provavelmente, a Gpx previna danos endoteliais por meio da inativação de peróxidos de hidrogênio, peróxidos lipídicos, ou peróxinitrito⁴⁵.

Embora a principal fonte celular de O_2^- seja a NADP(H), localizada na membrana, a NO sintase *per se* também pode gerar essa espécie química⁴⁶. Isso ocorre quando existe baixa concentração de seu cofator, a tetra-hidrobiopterina (BH_4)⁴⁷. Essa depleção de BH_4 pode ocorrer ainda de outra forma: além de cofator enzimático da NO sintase, a tetra-hidrobiopterina apresenta um perfil *sacavenger*, captando espécies reativas geradas durante o estresse oxidativo, que são convertidas em radical livre ($\text{BH}_3\cdot^-$)⁴⁸ e que podem ser regeneradas pelo ascorbato. De fato, a administração de ascorbato em condições de hiper-homocisteinemia conduz à restauração das funções endoteliais e corrobora a hipótese de que o estado de hiper-homocisteinemia seja responsável por gerar

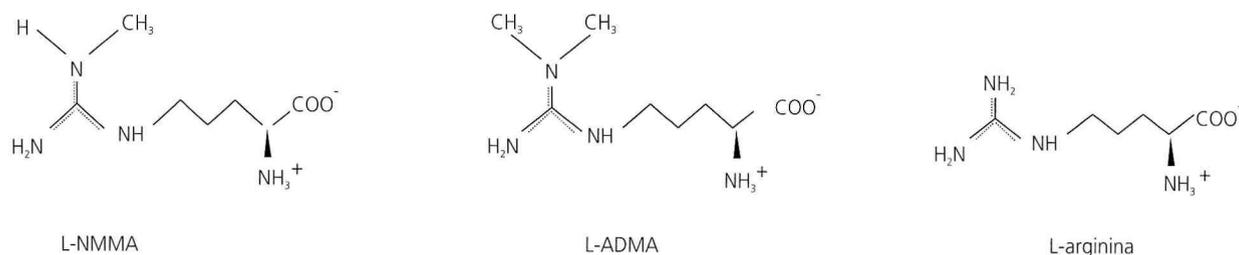


Figura 5. L-arginina e alguns de seus inibidores análogos que competem pelo sítio da NO sintase endotelial, impedindo a formação de óxido nítrico.

um ambiente oxidativo que exaure os estoques de BH_4 de modo a comprometer a síntese de NO ^{48,49}.

A formação de espécies oxidativas pode ainda ser privilegiada por outras substâncias potencialmente danosas para a manutenção da homeostasia endotelial, como a dimetilarginina assimétrica (ADMA) e o L-NMMA (N ω - Monometil L-arginina), que atuam como inibidores que competem com a L-arginina pelo sítio enzimático da eNO, e que se originam de resíduos resultantes da metilação da arginina durante o seu *turnover* proteico. Embora a concentração plasmática desses compostos seja baixa (<1 μ M), em algumas circunstâncias patológicas - insuficiência renal, por exemplo - eles podem acumular-se em quantidades suficientes para promover inibição da NO sintase⁴⁰. Normalmente os resíduos metilados de arginina são excretados na urina ou, no caso da ADMA e do L-NMMA, sofrem metabolização pela enzima dimetilarginina dimetilaminohidrolase (DDAH), parecendo sua atividade ser crítica na manutenção dos níveis plasmáticos de ADMA.

De fato, em experimentos com anéis arteriais isolados, mostrou-se que a inibição da atividade da DDAH resultou em gradual vasoconstrição prontamente revertida por meio da administração de L-arginina ao meio⁴⁸. Esses resultados sugerem que o ADMA é constantemente produzido durante o *turnover* normal das proteínas e que a enzima DDAH é essencial na prevenção do acúmulo dessa substância no plasma, que o acúmulo de ADMA ocorra em muitas desordens metabólicas, incluindo hiper-homocisteinemia, e que esteja relacionado ao aumento do estresse oxidativo. Os autores sustentam que a hiper-homocisteinemia seja uma condição em que há aumento do estresse oxidativo, o que a seu curso desencadeia redução da atividade da DDAH. Além disso, a própria homocisteína forma pontes dissulfeto com os grupos sulfidril da cisteína presente no sítio catalítico enzimático, necessário à sua atividade.

Fatores que de um modo ou de outro atacam a síntese e a liberação do óxido nítrico colaboram para o desenvolvimento da aterosclerose, já que o óxido nítrico exerce poderoso efeito antiaterogênico, uma vez que é capaz de inibir a adesão e a agregação, reduzir a expressão de moléculas de adesão

e citocinas, atenuar a adesão e a infiltração monocitária e reduzir a hiperplasia miointimal⁴⁰. Em suma, a maior parte dos trabalhos publicados mostra que pacientes com doença coronariana apresentam níveis elevados de homocisteína²¹. Em vários desses estudos, a hiper-homocisteinemia foi considerada fator de risco independente; mesmo dentro de níveis considerados como normais, o risco de desenvolvimento de doença coronária se eleva com o aumento da homocisteinemia, independentemente de outros fatores. Estudos que avaliam a hiper-homocisteinemia moderada têm produzido resultados conflitantes, o que mostra que mais estudos são necessários para a melhor compreensão desses mecanismos de ação que envolvem a doença vasclusiva e a homocisteína.

CONCLUSÃO

O mecanismo exato pelo qual a homocisteína conduz à maior propensão ao risco cardiovascular ainda não está plenamente elucidado. No entanto, sua capacidade de gerar um ambiente oxidativo que favoreça o surgimento de radicais livres é de suma importância, uma vez que a gênese da placa de ateroma tem na sua cascata de eventos a oxidação de compostos bioquímicos, como o LDL colesterol e a inativação do óxido nítrico. Embora diversos estudos mostrem uma relação de causa e efeito entre hiper-homocisteinemia e doenças vasclusivas, mais estudos são necessários para que essa relação se mostre de fato consistente. Grande parte dos estudos induz a hiper-homocisteinemia em animais de modo a obter valores cerca de 100 vezes maiores do que a concentração de homocisteína no plasma de indivíduos hiper-homocisteinêmicos.

Deve-se considerar, contudo, que, a hiper-homocisteinemia em associação com outros fatores de risco para a doença vascular pode ter seus efeitos deletérios potencializados. Mais estudos devem ser realizados para se estabelecer o mecanismo preciso pelo qual a homocisteína promove disfunção endotelial que conduz à aterogênese. Maiores esforços devem ser direcionados a fim de desenvolver formas mais rápidas e práticas para a mensuração dos níveis

plasmáticos de homocisteína, tornando possível assim a identificação eficaz de indivíduos hiper-homocisteinêmicos.

COLABORADORES

W.J. PINTO contribuiu nas discussões que envolvem a formação de ambientes oxidativos, na organização das tabelas, figuras e imagens e na organização final dos textos e discussões que compõem o manuscrito. M.A. AREAS participou na introdução e discussão relacionada à homeostase da homocisteína bem como nos elementos que podem causar a hiper-homocisteinemia. J.E. MARIALVA participou na seção pertinente à homocisteína como fator aterogênico, discussões que envolvem ainda os mecanismos de injúria vascular desencadeados pela condição de hiper-homocisteinemia. S.M.G. CARDOSO participou da elaboração do referido trabalho nos aspectos que envolvem a construção das figuras, tabelas e imagens presentes no texto, sua adequação com as informações do manuscrito e na redação da introdução, resumo e abstract. E.G. PINTO atuou nos aspectos que envolvem discussões pertinentes à hiper-homocisteinemia decorrente de carências nutricionais e participou da redação e discussão da determinação palmática da homocisteína e seus valores de referência.

REFERÊNCIAS

- Ross. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340(2):115-26.
- Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature.* 2000; 407(6801):233-41.
- Clarke R, Daly L, Robinson K, *et al.* Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med.* 1991; 324:1149-55.
- Wilcken DEL, Dudman NPB. Homocystinuria and atherosclerosis. *In:* Lusis AJ, Rotter JJ, Sparkes RS, editors. *Molecular genetics of coronary artery disease; candidate genes and process in atherosclerosis.* Monographs in human genetics. New York: Karger; 1992. p.311.
- Gordon T, Garcia-Palmieri MR, Kagan A, Kannel WB, Schiffman J. Differences in coronary heart disease in Framingham, Honolulu and Puerto Rico. *J Chronic Dis.* 1974; 27(7-8):329-44.
- Kannel WB, Castelli WP, Gordon T. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New perspectives based on the Framingham study. *Ann Intern Med.* 1979; 90(1):85-91.
- Mosher DF. Disorders of blood coagulation. *In:* Wyngaarden JB, Smith LH, Bennet JC, Cecil Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, *et al.* *Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase.* *Nat Struct Biol.* 2001; 8(8):679-83.
- Malinow M. Hyperhomocysteinemia: a common and easily reversible risk factor for occlusive atherosclerosis. *Circulation.* 1990; 81(6):2004-6.
- Neves LB, Macedo DM, Lopes AC. Homocisteína. *J Bras Patol Med Lab.* 2004; 40(5):311-20.
- Brasileiro RS. Homocisteína, ácido fólico, vitamina B₁₂ em adolescentes obesos de escola pública da cidade de São Paulo: estudo de caso-controle [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2004.
- Carson NAJ, Neil DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child.* 1962; 37:505-13.
- McCully, K.S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol.* 1969; 56:111-28.
- Eikelboom JW, Lonn E, Genest Jr J, Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med.* 1999; 131(5):363-75.
- Perez-de-Arce K, Fonca R, Leighton F. Reactive oxygen species mediates homocysteine-induced mitochondrial biogenesis in human endothelial cells: modulation by antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 338(2):1103-9.
- Baydas G, Ozer M, Yasar A, Koz ST, Tuzcu M. Melatonin prevents oxidative stress and inhibits reactive gliosis induced by hyperhomocysteinemia in rats. *Biochemistry (Moscow).* 2006; 71(Suppl 1):S91-5.
- Reutens S, Sachdev P. Homocysteine in neuropsychiatric disorders of the elderly. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2002; 17:859-64.
- Gauthier GM, Keevil JG, McBride PE. The association of homocysteine and coronary artery disease. *Clin Cardiol.* 2003; 26(12):563-8.
- Venâncio LS, Burini RC, Yoshida WB. Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. *J Vasc Br.* 2004; 3(1):31-7.
- Eikelboom JW, Lonn E, Genest Jr J, Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med.* 1999; 131(5):363-75.
- Fowler B. Homocysteine: overview of biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Semin Vasc Med.* 2005; 5(2):77-86.
- Bydlowski SP, Magnanelli AC, Chamone DAF. Hiper-Homocisteinemia e doenças vaso-oclusivas. *Arq Bras Cardiol.* 1998; 71(1):69-76.

22. Cabezas AM, Rodríguez JEFB. Metabolismo de la homocisteína y su relación con la aterosclerosis. *Rev Cubana Invest Biomed.* 1999; 18(3):155-68.
23. Jaconsen DW. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem* 1998; 44(8):1833-43.
24. Frantzen F, Faaren AL, Alfheim I, Nordhei AK. Enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum. *Clin Chem.* 1998; 44(2):311-6.
25. Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin Chem.* 1995; 41(3): 340-2.
26. Duell PB, Malinow MR. Homocysteinemia and risk of atherosclerosis: a clinical approach to evaluation and management. *Endocrinologist.* 1998; 8:170-27.
27. Gravina-Taddei CF, Batlouni M, Sarteschi C, Baltar VT, Nivea AC, Salvarini MC, *et al.* Hiper-Homocisteinemia como fator de risco para doença aterosclerótica coronariana em idosos. *Arq Bras Cardiol.* 2005; 85(3):166-73.
28. Jaconsen DW. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem.* 1998; 44(8): 1833-43.
29. Kraus JP. Biochemistry and molecular genetics of cystathionine beta-synthase deficiency. *Eur J Pediatr.* 1998; 157(2):S50-3.
30. McCully KS, Wilson RB. Homocysteine theory of arteriosclerosis. *Atherosclerosis.* 1975; 22(2):215-27.
31. Kang SS, Zhou J, Wong PWK, Kowalysyn J, Strokosch G. Intermediate homocystinuria: a thermolabile variant of methylene tetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet.* 1988; 43(4):414-21.
32. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med.* 1998; 338(15): 1042-50.
33. McAndrew PE, Brandt JT, Pearl DK, Prior TW. The incidence of the gene for thermolabile methylene tetrahydrofolate reductase in African Americans. *Thromb Res.* 1996; 83(2):195-8.
34. Wagner WE, Levine B. Folic acid and neural tube defects. *Curr Concepts Nutr.* 1993; 8:1-12.
35. Ungvari Z, Csiszar A, Edwards JG, Kaminski PM, Wolin MS, Kaley G, *et al.* Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocysteinemia: role of tumor necrosis factor-alpha, NAD(P)H oxidase, and inducible nitric oxide synthase. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(3):418-24.
36. Eberhardt RT, Forgione MA, Cap A, Leopold JA, Rudd MA, Tolliet M, *et al.* Endothelial dysfunction in a murine model of mild hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest.* 2000; 106(4):483-91.
37. Dayal S, Bottiglieri T, Arning E, Maeda N, Malinow MR, Sigmund CD, Heistad DD, *et al.* Endothelial dysfunction and elevation of S-adenosylhomocysteine in cystathionine b-synthasedeficient mice. *Circ Res.* 2001; 88(11):1203-9.
38. Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation.* 1999; 100(11):1161-8.
39. Faraci FM. Hyperhomocysteinemia: a million ways to lose control. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(3):371-3.
40. Pinto WJ, Areas MA, Reyes FGR. Óxido nítrico e o sistema vascular: uma revisão. *Acta Cient Biol Saúde.* 2003; 5(1):47-61.
41. McAndrew PE, Brandt JT, Pearl DK, Prior TW. The incidence of the gene for thermolabile methylene tetrahydrofolate reductase in African Americans. *Thromb Res.* 1996; 83(2):195-8.
42. Lentz, SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(8): 1646-54.
43. Dayal S, Brown KL, Weydert CJ, Oberley LW, Arning E, Bottiglieri T, *et al.* Deficiency of glutathione peroxidase-1 sensitizes hyperhomocysteinemic mice to endothelial dysfunction. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 2002; 22(12):1996-2002.
44. Ungvari Z, Csiszar A, Edwards JG, Kaminski PM, Wolin MS, Kaley G, *et al.* Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocysteinemia: role of tumor necrosis factor-alpha, NAD(P)H oxidase, and inducible nitric oxide synthase. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(3):418-24.
45. Guida-Cardoso SM, Pinto WJ, Ogo HS, Reyes FGR, Areas MA. Dietary fiber reduces lipid peroxidation and mean blood pressure in hypercholesterolemic hamsters. *Alimentaria.* 2004; 4:31-34.
46. Ullrich V, Bachschmid M. Superoxide as a messenger of endothelial function. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 278(1):1-8.
47. Xia Y, Tsai AL, Berka V, Zweier JL. Superoxide generation from endothelial nitric-oxide synthase: a Ca²⁺/calmodulin-dependent and tetrahydrobiopterin regulatory process. *J Biol Chem.* 1998; 273(40): 25804-8.
48. Patel KB, Stratford MR, Wardman P, Everett S A. Oxidation of tetrahydrobiopterin by biological radicals and scavenging. *Free Radic Biol Med.* 2002; 32(3):203-11.
49. Landmesser U, Dikalov S, Price SR, McCann L, Fukai T, Holland SM, *et al.* Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *J Clin Invest.* 2003; 111(8): 1201-9.

Recebido em: 2/6/2009

Versão final reapresentada em: 3/2/2010

Aprovado em: 4/2/2010

Doença hepática gordurosa não alcoólica: patogênese e achados histológicos com ênfase nas alterações mitocondriais

Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and histological findings, with emphasis on mitochondrial alterations

Gustavo Henrique da SILVA¹
Cecilia Amelia Fazzio ESCANHOELA¹

RESUMO

A esteatose hepática não relacionada ao alcoolismo pode ocorrer isoladamente ou como parte da doença hepática gordurosa não alcoólica, abrangendo amplo espectro de alterações morfológicas e variando de esteatose até estádios mais graves (acompanhados por fibrose), podendo chegar à cirrose. A esteatose hepática não relacionada ao alcoolismo tem grande importância clínica na atualidade não só por sua elevada prevalência (15% a 25% na população geral e superior a 80% entre obesos e diabéticos), mas também pela diversidade de condições relacionadas, tais como fatores nutricionais, hepatite pelo vírus C, doenças metabólicas, toxicidade por drogas etc. As alterações histológicas e a história natural da doença provavelmente reflitam um processo multifatorial complexo em que o ambiente genético tem grande importância uma vez que não se compreende porque alguns pacientes têm somente esteatose, enquanto outros desenvolvem esteato-hepatite, cirrose ou carcinoma hepatocelular. A fim de compreender melhor sua patogênese, vários são os artigos que correlacionam esteatose hepática a alterações mitocondriais (aumento do tamanho mitocondrial, da densidade, alterações na matriz e cristas e presença de megamitocôndrias com inclusões cristalinas), sendo a identificação precoce de formas de esteatose com con-

¹ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Departamento de Patologia. Av. Dr. Shigeo Mori, 1352, Cidade Universitária Zeferino Vaz, 13083-970, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: C.A.F. ESCANHOELA. E-mail: <fazzio@fcm.unicamp.br>.

mitante comprometimento mitocondrial de importância fundamental no prognóstico da doença. A esteatose microvesicular, na medida em que se relaciona a essas alterações, pode corresponder à lesão inicial do amplo espectro presente na esteatose hepática não relacionada ao alcoolismo, com uma pior evolução clínica.

Termos de indexação: Doença hepática gordurosa não alcoólica. Fígado gorduroso. Mitocondrias hepática. Hepatopatia.

ABSTRACT

Hepatic steatosis unrelated to alcoholism may occur either by itself or as part of nonalcoholic fatty liver disease. This disease encompasses a wide spectrum of morphologic alterations, ranging from steatosis to a more severe stage, accompanied by fibrosis, which may lead to cirrhosis. Nonalcoholic fatty liver disease is very important in current clinical practice. First, it has a high prevalence rate, affecting from 15% to 25% of the general population and more than 80% of obese and diabetic patients. Second, there is a diversity of related conditions, such as nutritional factors (malnutrition, total parenteral nutrition), hepatitis C, metabolic disease (Wilson's disease, glycogenosis, lipodystrophy and others) and drug toxicity (valproate, amiodarone, etc.). Histological changes and the natural history of nonalcoholic fatty liver disease probably reflect a complex multifactorial process in which the genetic environment has considerable importance, since it is still unknown why some patients have only steatosis while others develop steatohepatitis, cirrhosis or hepatocellular carcinoma. In order to better understand the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease, there are several articles correlating fatty liver to mitochondrial changes (increase in mitochondrial size and density, changes in the mitochondrial matrix and cristae as well as the presence of megamitochondria with crystalline inclusions). Early identification of the various forms of steatosis with concomitant mitochondrial changes may have a fundamental importance in the prognosis of the disease. Additionally, microvesicular steatosis, as it relates to these changes, may correspond to early histological damage in NAFLD, with a worse clinical progression of the disease.

Indexing terms: Nonalcoholic fatty liver disease. Fatty liver. Mitochondria, liver. Hepatic disease.

INTRODUÇÃO

A partir da década de 1980, alterações morfológicas hepáticas relacionadas à esteatose, porém com etiologias diversas, excetuando-se o álcool, passaram a ser denominadas Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA). Conceitualmente, trata-se de doença hepática caracterizada por esteatose que, a partir de algum momento, evolui desfavoravelmente, com inflamação, balonização e fibrose perissinusoidal e/ou portal (sendo então chamada de esteato-hepatite), podendo culminar com o desenvolvimento de cirrose. A esteatose, portanto, pode tanto ser uma condição transitória

em hepatócitos, como progredir, caracterizando evolução desfavorável da DHGNA.

A esteatose hepática pode se relacionar a alterações mitocondriais, a saber: aumento da densidade com ocasional aumento do tamanho mitocondrial¹, alterações da matriz e cristas², proliferação mitocondrial na esteatose microvesicular³ e megamitocôndrias com inclusões cristalinas na esteato-hepatite não alcoólica⁴.

A mitocôndria é o local de ocorrência de diversos processos metabólicos, tais como o ciclo do ácido tricarboxílico, β -oxidação de ácidos graxos, síntese de ureia e outros, utilizando-se de combustíveis como

glicose e ácidos graxos para obtenção de adenosina trifosfato. Qualquer distúrbio num desses mecanismos pode causar graves danos à célula e, conseqüentemente, ao tecido.

Este trabalho traz uma revisão da literatura sobre as alterações mitocondriais na esteatose hepática e sua relação com a etiologia e progressão da DHGNA.

DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

A DHGNA, termo clínico-patológico, abrange um amplo espectro de doenças que vai desde o acúmulo de lípidos em hepatócitos até cirrose, passando por estágios de esteato-hepatite (esteatose com inflamação e fibrose)⁵. A prevalência da DHGNA na população geral é estimada entre 3% e 24%⁶ e superior a 80% em indivíduos obesos e diabéticos⁷ (Quadro 1).

Esse termo foi utilizado quase que exclusivamente para a doença no adulto, entretanto, com o aumento de sua prevalência em todos os segmentos da população, sua utilização se tornou mais abran-

Quadro 1. Prevalência da DHGNA em diferentes populações.

População	Intervalo de prevalência (%)	Estudos publicados
Mundial	3 - 24	Browning <i>et al.</i> ⁵ Clark ⁸ Neuschwander-Tetri & Caldwell ⁹
Itália	20 - 25	Bedogni <i>et al.</i> ¹⁰
Israel	30	Amarapurkar <i>et al.</i> ¹¹
Coreia	16	Park <i>et al.</i> ¹²
Alemanha	14	Bellentani <i>et al.</i> ¹³
Japão	14	Nomura <i>et al.</i> ¹⁴
China	11,7 - 15	Zhou <i>et al.</i> ⁶ Marchesini <i>et al.</i> ¹⁵

DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica.

gente⁵, sendo utilizado para todas as faixas etárias, incluindo crianças¹⁶. Nessas, a DHGNA é caracterizada pela ausência de identificação de alterações inatas no metabolismo dos lípidos¹⁷, ocorrendo principalmente no gênero masculino, com vaga dor abdominal, como razão inicial para avaliação clínica¹⁷. Apesar da alta ocorrência da DHGNA na obesidade e no diabetes, muitos outros diagnósticos podem com elas estar relacionados (Quadro 2).

Quadro 2. Parâmetros utilizados para o diagnóstico da DHGNA.

Diagnóstico	Características
Clínico	- Assintomáticos - Fadiga - Incômodo ou dor abdominal no quadrante direito superior. Mais de 50% dos pacientes apresentam hepatomegalia
Laboratorial	- Elevação de ALT e AST geralmente com níveis de uma a quatro vezes além do limite da normalidade - Relação de AST/ALT é geralmente maior que 1 (podendo ser maior que 2) - Fosfatase alcalina pode ter elevação de duas vezes além do limite da normalidade - γ -GT pode estar elevada
Por imagem (Ultrassonografia e tomografia)	- Identificação de gordura infiltrada no fígado - Hepatomegalia
Histológico	- Esteatose microvesicular ou macrovesicular - Balonização - Necroinflamação - Fibrose perissinusoidal inicialmente na zona 3 acinar - Cirrose
Ultraestrutural	- Alterações mitocondriais: - Aumento numérico (alteração oncótica) - Hipertrofia - Megamitocôndrias com inclusões paracristalinas - Formato irregular e cristas atenuadas

As lesões morfológicas observadas na DHGNA são pouco distinguíveis daquelas induzidas pelo álcool, sendo as diferenças baseadas principalmente em argumentos clínicos e bioquímicos, além da avaliação do usuário de álcool: os pacientes com hepatite alcoólica são, geralmente, mais doentes, apresentam níveis mais elevados de bilirrubina no soro, além de apresentarem cirrose com maior frequência¹⁸. De maneira geral, histologicamente, na DHGNA, a atividade necro-inflamatória e a fibrose são mais suaves, os corpúsculos de Mallory mais raros e os depósitos de glicogênio nuclear mais frequentes¹⁸.

Esteatose

Esteatose é definida como o acúmulo anormal de triglicérides dentro de células parenquimatosas, observado com grande frequência (mas não exclusivamente) no fígado, principalmente devido ao seu envolvimento no metabolismo lipídico. Dentre as principais causas de esteatose, temos a ação de toxinas, desnutrição, diabetes *mellitus*, obesidade e abuso de álcool¹⁹.

A deposição de lípidos nas células hepáticas pode ser macrovesicular (Figura 1A), com distensão do hepatócito por um único e volumoso vacúolo e deslocamento nuclear, ou microvesicular (Figura 1B) com numerosos e menos volumosos vacúolos, mantendo-se a localização central do núcleo¹⁹. A esteatose microvesicular ocorre como resultado da alteração na β -oxidação mitocondrial, que conduz ao acúmulo de ácidos graxos na forma de triglicérides e formação de pequenas gotículas no citosol dos hepatócitos²⁰. A oxidação de ácidos graxos no fígado pode ocorrer nas mitocôndrias e nos peroxissomos, sendo gerada na β -oxidação peroxissomal elevada quantidade de peróxido de hidrogênio não acoplado ao sistema fosforilativo⁵.

A esteatose microvesicular geralmente é condição aguda, ocorrendo uma pausa na β -oxidação dos ácidos graxos²⁰, principalmente por perturbação da função mitocondrial e ribossomal, dentro e fora do fígado¹⁹. Esse tipo de esteatose apresenta maior

importância clínica, mas o fígado não é o único órgão envolvido, podendo ocorrer acúmulo de triglicérides nos túbulos renais e, ocasionalmente, no miocárdio, cérebro e pâncreas. Experimentalmente foi verificado, em porcos, que a capacidade regenerativa dos hepatócitos na esteatose macrovesicular é mais efetiva do que na esteatose microvesicular, com prognóstico menos favorável para esta última²¹.

A esteatose macrovesicular é tipicamente associada a distúrbio de longa duração do metabolismo hepático de lípidos; apesar de ser considerada condição benigna por Sherlock²², pode-se associá-la ao desenvolvimento de necroinflamação (esteato-hepatite), fibrose e cirrose²³.

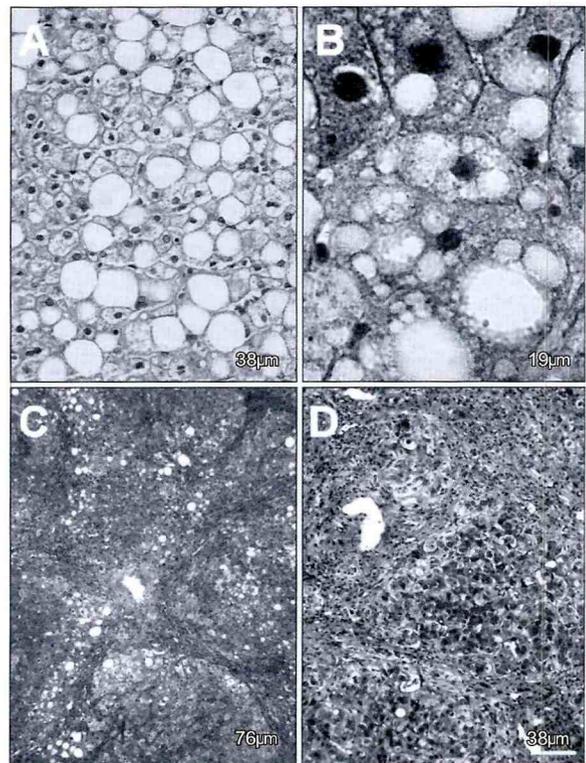


Figura 1. **A)** Esteatose macrovesicular: notar os grandes vacúolos dentro de cada célula tornando o núcleo excêntrico (Hematoxilina e Eosina). **B)** Esteatose microvesicular: notar que apesar dos inúmeros vacúolos dentro de cada célula, o núcleo se apresenta em sua posição central (Tricrômio de Masson). **C)** Esteato-hepatite estágio 3: notar a presença de fibrose na zona 3 com septos centro-porta e esboço de nódulos (Tricrômio de Masson). **D)** Cirrose: estágio 4 (Tricrômio de Masson).

A esteatose, de graus variados, pode ser difusa dentro do lóbulo hepático ou predominar na zona 3 acinar ao redor das veias hepáticas terminais¹⁶.

Esteato-hepatite

A esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) é definida pela associação da esteatose com outras lesões hepatocelulares, essencialmente balonização e necroinflamação. Os hepatócitos balonizados são amplos, com citoplasma claro, e corpos apoptóticos podem estar presentes¹⁶. A presença de corpúsculos de Mallory, agregados intracitoplasmáticos de filamentos intermediários de citoqueratina, não é necessária para o diagnóstico da esteato-hepatite, mas pequenos, escassos e inconspícuos podem estar presentes²⁴. Inclusões eosinofílicas, que correspondem na microscopia eletrônica a megamitocôndrias, com perda das cristas e contendo inclusões paracristalinas⁴, são ocasionalmente observadas no citoplasma dos hepatócitos. A intensidade da infiltração inflamatória varia com a gravidade da esteato-hepatite. A inflamação é geralmente mista, contendo linfócitos e neutrófilos em torno de hepatócitos alterados ou necróticos e/ou nas áreas portais¹⁶.

Fibrose e cirrose

A presença e a extensão da fibrose são extremamente importantes para a determinação do prognóstico. A fibrose perissinusoidal é, inicialmente, discreta e predominante na zona 3 acinar. Pode haver associação com fibrose portal e peri-portal, com formação progressiva de pontes fibrosas entre as veias hepáticas terminais e áreas portais ou entre os tratos portais adjacentes (Figura 1 C). Se houver formação de nódulos hepatocelulares completos circundados por fibrose anular, está instalada a cirrose (Figura 1D). Insuficiência hepática, hipertensão portal e carcinoma hepatocelular podem complicar a doença²⁵.

Patogênese da DHGNA

A hipótese mais aceita atualmente para a patogênese da DHGNA é a dos "dois golpes", postu-

lada por Day & James²⁶. De acordo com tal hipótese, a esteatose representa o "primeiro golpe," que aumenta a vulnerabilidade do fígado para diferentes "segundos golpes", que levam, por sua vez, à inflamação, à fibrose e à morte celular, características da esteato-hepatite não alcoólica.

A ocorrência de vários "segundos golpes" - como endotoxina e pró-oxidantes - resulta em dano hepático e mortalidade significativamente maior em ratos obesos com fígado gorduroso, comparados a ratos magros com fígados saudáveis²⁷. Diversos fatores têm sido postulados para constituir os segundos golpes, especialmente estresse oxidativo, citocinas pró-inflamatórias e endotoxina bacteriana²⁸. É importante destacar, entretanto, que esses mecanismos não são mutuamente exclusivos, mas quando atuam de maneira coordenada e cooperativa aceleram o desenvolvimento e a progressão de EHNA. Nos seres humanos, a gravidade da esteatose é um dos indicativos mais fortes do desenvolvimento de EHNA e a adiposidade central está associada ao aumento de citocinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo, assim como a resposta inflamatória exagerada está associada à administração de endotoxina²⁹. Uma vez geradas, as citocinas podem causar dano direto ao fígado ou atuar indiretamente, aumentando o estresse oxidativo, que, por sua vez, pode igualmente danificar diretamente a função hepática ou atuar indiretamente, perpetuando a resposta inflamatória³⁰. Consequentemente, nos ambientes propícios à geração de vários segundos golpes, como obesidade, um ciclo de perpetuação de agressões pode causar injúria hepática e culminar em EHNA e, progressivamente, em doença hepática grave.

Um aspecto importante da teoria de "dois golpes" é que a esteatose por si só não é causa do desenvolvimento de EHNA, mas um sensibilizante do fígado aos efeitos prejudiciais dos segundos golpes; um fator de estresse inócuo a um fígado saudável pode levar ao desenvolvimento de EHNA em um fígado esteatótico³¹.

Classificação e estadiamento da DHGNA

O prognóstico da DHGNA depende da intensidade dos achados histopatológicos, tanto da atividade necroinflamatória (esteatose e necroinflamação) como do estadiamento, que reflete o padrão e a extensão da fibrose, assim como a remodelação da arquitetura³². Para tanto, algumas classificações³²⁻³⁴ foram propostas, graduando-se esses elementos, separada ou conjuntamente (Quadro 3).

PRINCIPAIS DISFUNÇÕES MITOCONDRIAIS NA DHGNA

A mitocôndria é a usina energética celular que gera o ATP ou o calor a partir de substratos derivados da gordura e da glicose. Os hepatócitos são, normalmente, ricos em mitocôndrias; cada célula contém, aproximadamente, 800 mitocôndrias, que ocupam aproximadamente 18% do volume celular do fígado. A mitocôndria é formada por uma dupla membrana, contendo matriz e genoma. A membrana externa é sustentada pela membrana interna, regulando o efluxo de enzimas, cátions e substratos para o citosol, além de ser o sítio de transporte específico para vários substratos que devam passar do citosol para dentro dela³⁵. A membrana interna contém cadeias “eletrônicas” de transporte (cadeia respiratória), que aceitam elétrons gerados no ciclo do ácido cítrico e na oxidação de ácidos graxos. Nela, existem numerosos transportadores específicos

para várias moléculas e enzimas (ATP-sintases), que medeiam a fosforilação oxidativa e a síntese de ATP. A matriz mitocondrial contém enzimas do ciclo do ácido tricarboxílico, da β -oxidação de ácidos graxos, da síntese de ureia e de outras vias metabólicas, além do DNA mitocondrial (DNAm), que codifica 13 polipeptídeos da cadeia respiratória³⁵.

Entre as chamadas hepatopatias mitocondriais (doenças hepáticas decorrentes de alterações mitocondriais), defeitos no transporte de elétrons na cadeia respiratória são classificados por Sokol & Treem¹ como desordens primárias, tais como síndrome de depleção de DNA mitocondrial (SDDmt), insuficiência hepática neonatal, doença de Alper, síndrome de Pearson, defeito na oxidação de ácidos graxos e outras³⁵. Desordens secundárias se relacionam à injúria tóxica, metais e xenobióticos e podem ser causadas por toxinas e drogas, como o fialuridina³⁶, por acúmulo de metais, como na doença de Wilson³⁷, síndrome de Reye³⁸, etilismo²², colestase crônica³⁵, toxina do *Bacillus Cereus*³⁹ entre muitos outros fatores, incluindo a EHNA, na qual observamos esteatose micro e macrovesicular, acompanhada por alterações necroinflamatórias e fibrose portal, na ausência de alcoolismo.

Embora os mecanismos responsáveis pelo acúmulo de lípidos não estejam completamente explicados, a diminuição da oxidação, a disponibilidade e o transporte aumentado no fígado e a síntese hepática aumentada de ácidos graxos provavelmente apresentem um papel significativo na pato-

Quadro 3. Proposta de classificação do estadiamento da DHGNA por Brunt *et al.*²⁴ e Sociedade Brasileira de Patologia (Freitas & Cotrim²⁶).

Grau	Brunt <i>et al.</i> ²⁴	Sociedade Brasileira de Patologia (Freitas & Cotrim ²⁶)
0		Ausência de fibrose na zona 3
1	Fibrose perissinusoidal focal ou extensa na zona 3	Arquitetura lobular preservada, com fibrose perissinusoidal limitada às áreas perivenulares
2	Fibrose periportal focal ou extensa adicional	Arquitetura lobular preservada, com fibrose perissinusoidal e formação de finos septos esparsos, com ou sem expansão fibrosa portal;
3	Fibrose perissinusoidal e portal com focal ou extensa formação de pontes	Arquitetura lobular alterada, com septos unindo estruturas vasculares entre si; esboço de nódulos
4	Cirrose	Arquitetura predominantemente nodular ou cirrose instalada

gênese da DHGNA. Vários estudos^{4,20,40} mostram que anomalias mitocondriais estão estreitamente relacionadas à patogênese da DHGNA, levando à hipótese de que a DHGNA seja uma doença mitocondrial. As anomalias mitocondriais associadas com a DHGNA incluem lesões ultraestruturais, depleção de DNA mitocondrial (DNAm_t), atividade diminuída dos complexos da cadeia respiratória e danos da β -oxidação mitocondrial. Mudanças morfológicas anormais nas mitocôndrias do fígado foram observadas em humanos e nos modelos animais com EHNA^{3,4,40,41}. A microscopia eletrônica revela que as mitocôndrias na DHGNA são grandes e escassas (Figura 2A); a matriz é hipodensa e contém inclusões paracristalinas (Figura 2B). Defeitos ultraestruturais nas mitocôndrias de pacientes com DHGNA podem ser indicativos de função mitocondrial defeituosa, levando, por exemplo, à atividade reduzida da cadeia respiratória mitocondrial⁴² e síntese defeituosa de ATP⁴³. A DHGNA está presente frequentemente nos pacientes com resistência à insulina, obesidade e diabetes tipo 2, algumas condições metabólicas em que há diminuição do consumo de oxigênio e de produção de ATP, redução do DNAm_t total e da transcrição do fator A do DNAm_t e redução das proteínas respiratórias nos adipócitos, músculo e fígado⁴⁴.

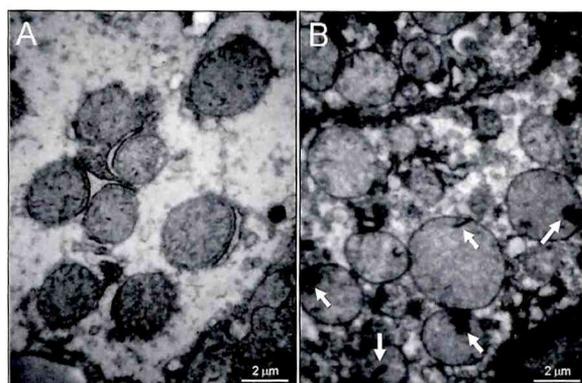


Figura 2. **A)** Mitocôndria de fígado com esteatose microvesicular exibindo megamitocôndrias com inclusões cristalinas (setas). **B)** Mitocôndrias de fígado com esteatose microgotticular apresentando tamanho elevado, hipodensidade e cristas pouco evidentes.

A depleção do DNAm_t nos hepatócitos inibe a função mitocondrial e causa esteatose hepática e outras injúrias hepáticas. Os pacientes com EHNA apresentam expressão diminuída dos polipeptídeos codificados pelo DNAm_t⁴⁵ e baixa atividade dos complexos I, II, III, IV e V⁴². A síndrome da deficiência de DNAm_t (SDDmt), provavelmente, é a mais comum entre as desordens na cadeia respiratória da mitocôndria⁴⁶. Pacientes que apresentam a forma hepática da SDDmt nos primeiros seis meses de vida mostram progressiva insuficiência hepática e frequente envolvimento neurológico; investigações metabólicas revelam hipoglicemia e elevados níveis de lactato nos fluidos corporais; lesões hepáticas incluem esteatose e fibrose progredindo para cirrose, aumento do número de mitocôndrias pleomórficas e anomalias nas cristas^{46,47}. Nessa condição é descrita esteatose microvesicular associada a alterações mitocondriais na matriz, cristas e também aumento do número total de mitocôndrias, denominada alteração oncocítica²⁻³.

Múltiplas enzimas estão envolvidas na β -oxidação mitocondrial e suas deficiências podem levar ao desenvolvimento da esteatose. Camundongos, por exemplo, com disfunção nos genes da Acil-CoA desidrogenase de "cadeia-média" e Acil-CoA desidrogenase de "cadeia-muito-longa" manifestam defeitos na oxidação de ácidos graxos que levam, provavelmente, à esteatose hepática micro e macrovesicular.

Defeitos ultraestruturais em mitocôndrias em pacientes com DHGNA podem ser indicativos de fosforilação oxidativa defeituosa, visto que esses pacientes apresentam reduzida atividade na cadeia respiratória mitocondrial⁴⁸ com prejuízo na síntese de adenosina trifosfato após recusa da frutose⁴³. Tais disfunções podem levar à produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO). Se a cadeia respiratória é interrompida em certos pontos, os intermediários respiratórios podem transferir elétrons para moléculas de oxigênio, produzindo ânions superóxido e peróxido de hidrogênio⁴⁹. Se a capacidade oxidativa da mitocôndria permanece estagnada, ácidos graxos são acumulados no citosol. Vias alternativas são então

ativadas nos peroxissomos (β -oxidação) e nos microsomos (ω -oxidação), resultando na formação adicional de EROs⁵⁰.

MECANISMOS DA ESTEATOSE HEPÁTICA

Embora os mecanismos responsáveis pela esteatose hepática na EHNA não estejam inteiramente elucidados, o aumento da disponibilidade de ácidos graxos livres no fígado e aumento da síntese hepática de ácidos graxos podem representar papel fundamental nessa disfunção. Além disso, na EHNA foi observada diminuição da secreção hepática de apolipoproteína B (apo B), embora sem relação direta com aumento ou diminuição da secreção hepática de triglicérides⁴¹.

A disponibilidade aumentada de ácidos graxos no fígado colabora para o desenvolvimento de esteatose em pacientes com diabetes tipo 2. Normalmente, os adipócitos de indivíduos magros e insulino-sensíveis armazenam a gordura após refeições e liberam ácidos graxos durante períodos de jejum. Ao contrário, os adipócitos de indivíduos obesos ou insulino-resistentes mantêm liberação contínua de grandes quantidades de glicerol e ácidos graxos na circulação, o que ocorreria somente no jejum⁴². Como os ácidos graxos são prontamente levados aos hepatócitos, a resistência à insulina aumenta extremamente a quantidade de ácidos graxos disponíveis ao fígado⁴¹. E não somente os ácidos graxos livres em excesso no plasma são levados ao fígado, mas também passam a ser nele sintetizados mais ativamente. Certamente, os níveis aumentados de insulina e glicose estimulam a síntese do ácido graxo e triacilglicerol com ativação da expressão de enzimas-chaves envolvidas na lipogênese, promovendo a formação e deposição de triacilglicerol no fígado⁵¹.

A EHNA também se caracteriza pela diminuição da saída de apolipoproteína B do fígado, documentada em alguns pacientes⁵². Evidências recentes sugerem que essa redução possa ser um distúrbio primário na EHNA⁵², sendo causada, ao menos em parte, por diminuição da transcrição e/ou da estabi-

lidade do RNAm. É possível que a hiperinsulinemia tenha influência nesse mecanismo, pois a insulina diminui a síntese e a estabilidade da apolipoproteína B⁴⁸. A síntese e/ou a secreção hepática diminuídas de apo B na EHNA podem estar associadas a concentrações reduzidas ou aumentadas de apo B e a níveis elevados de triglicérides no plasma⁵².

DISCUSSÃO

O exame histológico do fígado com defeitos na cadeia respiratória pode mostrar quatro principais alterações: esteatose, fibrose, colestase e necrose. Esteatose está presente em quase todos os casos de doença hepática mitocondrial, sendo a forma microvesicular a alteração típica e muitas vezes acompanhada pela esteatose macrovesicular⁵³.

Nessa condição, o fato de as mitocôndrias, em hepatócitos com alta proliferação delas, apresentarem tamanho e formato semelhantes com frequente ausência de cristas visíveis pode suportar a hipótese de hiperplasia compensatória dessas organelas². Um aspecto importante, tendo em vista a teoria dos "dois golpes", proposto por Day & James¹⁹ para explicar a patogênese da DHGNA, é o fato de a esteatose isoladamente não evoluir para esteato-hepatite. No entanto, seria um fator que sensibilizaria o fígado para os efeitos mais danosos de um "segundo golpe". O acúmulo de gordura hepática em si não é prejudicial, mas, sim, os insultos secundários - por exemplo, EROs e citocinas inflamatórias - impostos ao fígado esteatótico, com progressão para esteato-hepatite. Recentemente, crescente número de trabalhos na literatura científica sugere fortemente que a composição dos ácidos graxos presentes no fígado interfira na gravidade da lesão hepática, com piora da progressão relacionada aos ácidos graxos saturados³¹.

De acordo com Oleszczuk *et al.*²¹ e Sherlock²², a esteatose macrovesicular seria lesão de menor gravidade quando comparada à esteatose microvesicular. Esses autores sugerem que o fígado gorduroso, à custa de esteatose macrovesicular, seja mais resistente a eventuais outras agressões. Ao contrário,

a esteatose microvesicular, que representa condição mais grave, com risco de morte por insuficiência hepática⁵⁴, parece tornar o fígado mais sensível para mecanismos deletérios secundários¹⁹. Fígados que desenvolvem moderada e grave esteatose microvesicular após o transplante mostram aumento significativo na perda precoce de função⁵⁵, muito provavelmente devido à diminuição do número de hepatócitos em regeneração. A capacidade regenerativa reduzida na esteatose microvesicular contribui para o pior prognóstico nesse tipo de alteração hepática. Foi verificado que, em paciente infantil portador de esteatose hepática, o predomínio da forma microvesicular se associa ao aumento das dimensões mitocondriais⁵⁶, sugerindo que a esteatose microvesicular, além de representar o “primeiro golpe”, também apresenta os efeitos deletérios do “segundo golpe”.

Baseada, principalmente, nas alterações morfológicas e volumétricas presentes nas mitocôndrias^{2,3,46,47,56}, essa forma de esteatose - que não deve ser chamada de esteatose “pura” - pode corresponder à lesão inicial do amplo espectro presente na DHGNA, com pior evolução clínica da doença a ela associada. É necessário assim um diagnóstico precoce e maior atenção para os casos em que houver esteatose microvesicular, uma vez que a evolução pode ocorrer de maneira desfavorável.

COLABORADORES

G.H.SILVA realizou o levantamento bibliográfico, organizou as informações para produção do texto, quadros do artigo e captura das imagens de microscopia eletrônica. C.A.F. ESCANHOELA realizou a revisão do texto, a complementação das informações, a correção das tabelas e captura das imagens de microscopia de luz.

REFERÊNCIAS

1. Sokol RJ, Treem WR. Mitochondria and childhood liver diseases. *J Pediatr Gastroenterol Nut.* 1999; 28(1): 4-19.
2. Mandel H, Hartman C, Berkowitz D, Elpeleg ON, Manov I, Iancu TC. The hepatic mitochondrial DNA depletion syndrome: ultrastructural changes in liver biopsies. *Hepatology.* 2001; 34(4 pt1):776-84.
3. Bioulac-Sage P, Parrot-Roulaud F, Mazat JP, Lamireau T, Coquet M, Sandler B, *et al.* Fatal neonatal liver failure and mitochondrial cytopathy (oxidative phosphorylation deficiency): a light and electron microscopic study of the liver. *Hepatology.* 1993; 18(4):839-46.
4. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology.* 2001; 120(5):1183-92.
5. Browning DJ, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest.* 2004; 114(2):147-52.
6. Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Ma JX, Lu LG, Shi SL, *et al.* Prevalence of fatty liver disease and risk factors in the population of South China. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(47):6419-24.
7. Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future. *Hepatology.* 2007; 46(2):582-9.
8. Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *J Clin Gastroenterol.* 2006; 40(1): S5-S10.
9. Neuschwander-Tetri B, Caldwell S. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology.* 2003; 37(5):1202-19.
10. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology.* 2005; 42(1):44-52.
11. Amarapurkar DN, Hashimoto E, Lesmana LA, Sollano JD, Chen PJ, Goh KL. How common is non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region and are there local differences? *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22(6):788-93.
12. Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, *et al.* Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 21(1 pt 1):138-43.
13. Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, Sodde M, Fratti N, De Martin C, *et al.* Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos Study. *Hepatology.* 1994; 20(6):1442-9.
14. Nomura H, Kashiwagi S, Hayashi J, Kajiyama W, Tani S, Goto M. Prevalence of fatty liver in a general population of Okinawa, Japan. *JPN J Med.* 1998; 27(2): 142-9.

15. Marchesini G, Marzocchi R, Agostini F, Bugianesi E. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol*. 2005; 16(4):421-7.
16. Zafrani ES. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging pathological spectrum. *Virchows Arch*. 2004; 444(1):3-12.
17. Marion AW, Baker AJ, Dhawan A. Fat liver disease in children. *Arch Dis Child*. 2004; 89(7):648-52.
18. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002; 123(5):1705-25.
19. Day CP, James OF. Hepatic steatosis: innocent bystander or guilty party? *Hepatology*. 1998; 27(6):1463-6.
20. Fromenty B, Pessayre D. Inhibition of mitochondrial beta-oxidation as a mechanism of hepatotoxicity. *Pharmacol Ther*. 1995; 67(1):101-54.
21. Oleszczuk A, Spannbauser M, Tannapfel A, Blüher M, Hengstler J, Pietsch UC, et al. Regenerative capacity differs between micro- and macrovesicular hepatic steatosis. *Exp Toxicol Pathol*. 2007; 59(3-4):205-13.
22. Sherlock S. Alcoholic liver disease. *Lancet*. 1995; 345:227-9.
23. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology*. 1994; 107(4):1103-9.
24. Reid, AE. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2001; 121(3):710-23.
25. Hui JM, Kench JG, Chitturi S, Sud A, Farrell GC, Byth K, et al. Long-term outcomes of cirrhosis in nonalcoholic steatohepatitis compared with hepatitis C. *Hepatology*. 2003; 38(2):420-7.
26. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*. 1998; 114(4):842-5.
27. Ito K, Kiyosawa N, Kumagai K, Manabe S, Matsunuma N, Yamoto T. Molecular mechanism investigation of cycloheximide-induced hepatocyte apoptosis in rat livers by morphological and microarray analysis. *Toxicology*. 2006; 219(1-3):175-86.
28. Festi D, Colecchia A, Sacco T, Bondi M, Roda E, Marchesini G. Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance. *Obes Rev*. 2004; 5(1):27-42.
29. Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, Clemens M, Diehl AM. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94(6):2557-62.
30. Abdelmalek MF, Diehl A. Mechanisms underlying nonalcoholic steatohepatitis. *Drug Discov Today Dis Mech*. 2006; 3(4):479-88.
31. Gentile CL, Pagliassotti MJ. The role of fatty acids in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem*. 2008; 19(9):567-76.
32. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatites: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94(9):2467-74.
33. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 1999; 116(6):1413-9.
34. Freitas LAR, Cotrim HP. Esteato-hepatite não alcoólica (NASH). Atlas histológico. Salvador: Nova Agência e Lab. Zambon; 2006.
35. Treem, RT; Sokol, RJ. Disorders of the mitochondria. *Semin Liver Disease*. 1998; 18(3):237-53.
36. McKenzie R, Fried MW, Sallie R, Conjeevaram H, Di Bisceglie AM, Park Y, et al. Hepatic failure and lactic acidosis due to fialuridine (FIAU), an investigational nucleoside analogue for chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 1995; 333(17):1099-105.
37. Sokol RJ, Treem WR. Mitochondria and childhood liver diseases. *J Pediatr Gastroenterol Nut*. 1999; 28(1):4-19.
38. De Vivo DC. Reye syndrome: a metabolic response to an acute mitochondrial insult? *Neurology*. 1978; 28:105-8.
39. Mahler H, Pasi A, Kramer JM, Schulte P, Scoging AC, Bar W, et al. Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. *N Engl J Med*. 1997; 336(16):1142-8.
40. Ibdah JA, Perlegas P, Zhao Y, Angdisen J, Borgerink H, Shadoan MK, et al. Mice heterozygous for a defect in mitochondrial trifunctional protein develop hepatic steatosis and insulin resistance. *Gastroenterology*. 2005; 128(5):1381-90.
41. Begrich K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion*. 2006; 6(1):1-28.
42. Perez-Carreras M, Del Hoyo P, Martin MA, Rubio JC, Martin A, Castellano G, et al. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2003; 38(4):999-1007.
43. Cortez-Pinto H, Zhi Lin H, Qi Yang S, Odwin-da-Costa S, Diehl AM. Lipids up-regulate uncoupling protein 2 expression in rat hepatocytes. *Gastroenterology*. 1999; 116(5):1184-93.
44. Valerio A, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tedesco L, Pisconti A, et al. TNF-alpha downregulates eNOS expression and mitochondrial biogenesis in fat and

- muscle of obese rodents. *J Clin Invest.* 2006; 116(10): 2791-8.
45. Santamaria E, Avila MA, Latasa MU, Rubio A, Martin-Duce A, Lu SC, *et al.* Functional proteomics of nonalcoholic steatohepatitis: mitochondrial proteins as targets of S-adenosylmethionine. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100(6):3065-70.
46. Moraes CT, Shanske S, Tritschler HJ, Aprille JR, Andreetta F, Bonilla E, *et al.* MtDNA depletion with variable tissue expression: a novel genetic abnormality in mitochondrial diseases. *Am J Hum Genet.* 1991; 48(3):492-501.
47. Morris AA, Taanman JW, Blake J, Cooper JM, Lake BD, Malone M, *et al.* Liver failure associated with mitochondrial DNA depletion. *J Hepatol.* 1998; 28(4): 556-63.
48. Morris AA. Mitochondrial respiratory chain disorders and the liver. *Liver.* 1999; 19:357-68.
49. Hensley K, Kotake Y, Sang H, Pye QN, Wallis GL, Kolker LM, *et al.* Dietary choline restriction causes complex I dysfunction and increased H₂O₂ generation in liver mitochondria. *Carcinogenesis.* 2000; 21(5):983-9.
50. Berson A, De Beco V, Letteron P, Robin MA, Moreau C, El Kahwaji J, *et al.* Steatohepatitis-inducing drugs cause mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation in rat hepatocytes. *Gastroenterology.* 1998; 114(4): 764-74.
51. Matsusue K, Haluzik M, Lambert G, Yim SH, Gavrilova O, Ward JM, *et al.* Liver specific disruption of PPAR-g in leptin-deficient mice improves fatty liver but aggravates diabetic phenotypes. *J Clin Invest.* 2003; 111(5):737-47.
52. Taghibiglou C, Carpentier A, Van Iderstine SC, Chen B, Rudy D, Aiton A, *et al.* Mechanisms of hepatic very low density lipoprotein overproduction in insulin resistance. Evidence for enhanced lipoprotein assembly, reduced intracellular apoB degradation, and increased microsomal triglyceride transfer protein in a fructose-fed hamster model. *J Biol Chem.* 2000; 275(12):8416-25.
53. Oleszczuk A, Spannauer M, Tannapfel A, Blüher M, Hengstler J, Pietsch UC, *et al.* Regenerative capacity differs between micro- and macrovesicular hepatic steatosis. *Exp Toxicol Pathol.* 2007; 59(3-4):205-13.
54. Ellis AJ, Wendon JA, Portmann B, Williams R. Acute liver damage and ecstasy ingestion. *Gut.* 1996; 38(3): 454-8.
55. Fishbein M, Mogren J, Cox S, Jennings R. Undetected hepatomegaly in obese children by primary care physicians: a pitfall in the diagnosis of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Pediatr.* 2005; 44(2):135-41.
56. Silva GH, Coelho KIR, Coelho CAR, Escanhoela CAF. Mitochondrial alterations in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Pediatric case description of 3 (three) submitted sequential biopsies. *J Gastroenterol Liver Dis.* 2009; 18(2):21.

Recebido em: 5/8/2009

Versão final reapresentada em: 10/12/2009

Aprovado em: 29/1/2010

Hiperplasia epitelial papilomatosa em crianças

Focal epithelial hyperplasia in infants

Sérgio Luiz PINHEIRO¹

Joanna Maciel Rocha Penteado de AGUIAR²

Natália BRIANEZ²

Tamara Camarota NASCIMENTO²

Gabriel Tilli POLITANO¹

Sandra Regina Echeverria Pinho da SILVA¹

RESUMO

O papilomavírus humano consiste em um grupo de viroses de filamento duplo de DNA, podendo estar presente na célula do hospedeiro. As células epiteliais infectadas pelo papilomavírus humano sofrem transformações e se proliferam, desenvolvendo lesões verrucosas. O período de incubação usual é de um a três meses. O objetivo do presente trabalho é relatar caso clínico de lesão hiperplásica papilomatosa manifestada no palato dias após o nascimento. A anamnese e o exame clínico em odontopediatria devem incluir exame detalhado do paciente, visando ao correto diagnóstico e ao tratamento adequado da lesão hiperplásica. Paciente E. B., gênero masculino, três anos de idade, chegou à clínica de odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Católica de Campinas com presença de lesão hiperplásica pediculada - composta por inúmeras papilas de coloração avermelhada em sua superfície -, localizada na papila incisiva na região de palato duro. Foi realizada a biópsia e o material foi fixado em formol 10% para realização do exame anatomopatológico, que confirmou lesão hiperplásica epitelial papilomatosa, consequência de processo inflamatório crônico com leve atividade e ausência de malignidade no material.

Termos de indexação: Mucosa bucal. Odontopediatria. Papiloma.

¹ Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Faculdade de Odontologia. Av. Jonh Boyd Dunlop, s/n., Prédio Administrativo, Jd. Ipaussurama, 13090-950, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: S.L. PINHEIRO. E-mails: <psergio@usp.br>; <slpinho@puc-campinas.edu.br>.

² Acadêmicas, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Faculdade de Odontologia. Campinas, SP, Brasil.

ABSTRACT

The human papillomavirus is a group of double-stranded DNA viruses that may be present in the host cell. Human papillomavirus-infected epithelial cells undergo transformation and proliferation, evolving into verrucous lesions. The usual incubation period is between 1 and 3 months. The objective of the present study is to report the clinical case of an infant presenting with a hyperplastic, papillomatous lesion of the palate a few days after birth. Patient E.B., male, 3 years old, arrived at the Pediatric Dentistry Clinic of the School of Dentistry of the Pontifical Catholic University of Campinas with pedunculated hyperplastic incisive papilla in the hard palate region. A biopsy was performed and the material was fixed in 10% formalin for anatomic and pathological analysis. Microscopic examination of the specimen showed a hyperplastic, papillomatous epithelial lesion due to a mildly active chronic inflammatory process and absence of malignancy. Anamnesis and clinical examination in pediatric dentistry should include a detailed examination of the patient for an accurate diagnosis and appropriate therapy for hyperplastic lesions.

Indexing terms: Mouth mucosa. Pediatric dentistry. Papilloma.

INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é, atualmente, um tipo de infecção bem difundido e incidente em todo mundo¹. O HPV encerra um grupo de viroses de filamento de DNA, que pode estar completamente integrado ao DNA da célula hospedeira².

O HPV tem sido detectado em indivíduos jovens, como bebês recém-nascidos. A presença desse vírus em crianças resulta da contaminação passível de ocorrer no momento da passagem do bebê pelo canal de parto contaminado. Ainda não se sabe, porém, se a presença do vírus no bebê existe devido à contaminação passiva ou devido à infecção perinatal da criança. Outras formas de se contrair o HPV são por transmissão pré-natal via placenta, fluido amniótico, cordão umbilical e transmissão horizontal³. A prevalência do HPV na cavidade oral e na orofaringe ainda não está bem esclarecida, podendo, às vezes, estar relacionada até mesmo ao abuso sexual de crianças⁴.

A infecção também pode ser iniciada quando o vírus penetra no novo hospedeiro através de micro-traumatismos⁵. O desenvolvimento e sua gravidade irão depender do estado imunológico do hospedeiro⁶ e do tipo de vírus que o infectou^{7,8}.

Existem, atualmente, mais de 100 tipos de HPV identificados, muitos deles relacionados a lesões

de cabeça e pescoço, podendo causar algumas doenças, tais como: papiloma escamoso oral, sinusais - fungiforme, invertido e de células cilíndricas -, verruga vulgar, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial focal⁷. Na cavidade oral, 24 tipos mostram estar associados a lesões benignas e 12 a lesões malignas⁹.

Os tumores benignos ocorrem principalmente em indivíduos na faixa etária dos 30 aos 50 anos, embora possam ocorrer também nos menores de 10 anos de idade¹⁰. Usualmente, afetam o palato mole, a língua, o freio da língua e o lábio inferior. Na maioria dos casos, os papilomas são únicos e pequenos (<1cm), possuem um crescimento exofítico e aparecem tanto como uma intumescência ovoide de base ampla ou como uma lesão pediculada. A superfície pode apresentar pequenas projeções digitiformes, atribuindo a ela um contorno verrucoso grosseiro. A cor varia de branca à rosa, dependendo dos graus de queratinização e de vascularização¹.

A hiperplasia epitelial focal é uma doença pouco frequente na mucosa oral produzida pelo HPV. Essa doença consiste em lesão benigna que pode se localizar na mucosa oral, lábios e língua, e mais notadamente no lábio inferior¹¹⁻¹³. É caracterizada, clinicamente, por pápulas múltiplas, indolores e amolecidas, de coloração variável entre rosa pálido

e cor normal da mucosa. Uma forte história familiar foi sugerida por diversos autores^{12,14}. Os HPV 13 e 32 foram considerados específicos da hiperplasia epitelial focal, porém o HPV 32 foi também encontrado em outras lesões orais, mas nunca fora da cavidade oral¹⁵⁻¹⁷.

A prevalência do HPV nas lesões benignas - papilomas de células escamosas, condilomas e verruga vulgar - da cavidade oral e da orofaringe foi dos HPV 6 e 11 em papilomas e condilomas, e nas verrugas orais a prevalência foi dos HPV 2 e 57 com predomínio para o HPV 2. O HPV está presente em todos os casos, variando de 13% a 100% de positividade. Provavelmente isso aconteça em virtude de essas lesões apresentarem maior número de células contendo o DNA do HPV. Observa-se também o predomínio dos HPV de baixo risco, principalmente o HPV 6 e 11, justificado por serem os tipos mais frequentemente associados às lesões orais papilomatosas benignas, enquanto os de alto risco, como o HPV 16, só apareceram em três resultados¹⁸.

O objetivo do presente trabalho é relatar caso clínico de lesão hiperplásica papilomatosa manifestada no palato dias após o nascimento.

RELATO DE CASO

Paciente E.B., gênero masculino, três anos de idade, chegou à clínica de odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Campinas com a mãe, que relatava a presença de uma lesão no palato da criança (Figura 1). Segundo relato da mãe, a lesão apareceu logo após o nascimento e estava aumentando de tamanho a cada dia.

Durante a anamnese, relatou-se o uso de chupeta até os dois anos e meio de idade e mamadeira até o momento de sua consulta. Sua saúde geral mostrou-se satisfatória e no exame clínico local constatou-se higienização deficiente com presença de biofilme dental visível. Observou-se hiperplasia pediculada - composta por inúmeras papilas de coloração avermelhada em sua superfície -, localizada na papila incisiva em região de palato duro.

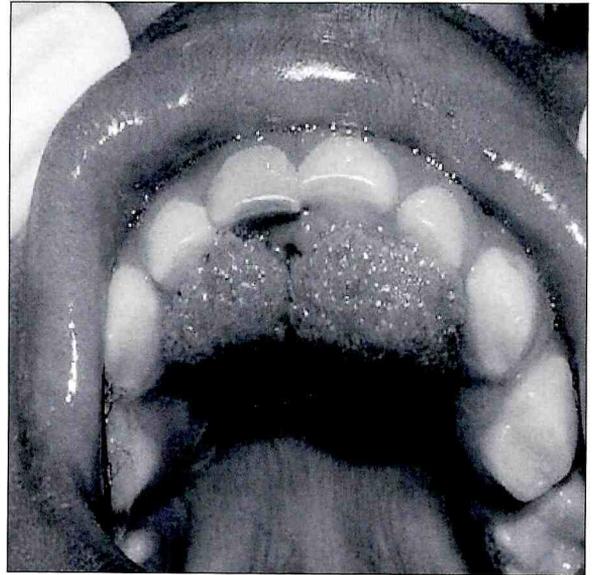


Figura 1. Aspecto clínico inicial da lesão.

Após o término do preenchimento da anamnese e avaliação geral e local da criança, orientou-se a mãe sobre o correto procedimento para manutenção de higiene oral adequada para seu bebê, como técnica de escovação, tipo de escova e creme dental específicos para essa faixa etária. Planejou-se para a sessão seguinte a realização de biópsia excisional da lesão. Para o procedimento relatado, medicou-se a paciente com uma dose pré-operatória de analgésico (dipirona sódica gotas 500mg/mL, Medley Campinas SP, Brasil), pois esperava-se dor de intensidade leve a moderada no pós-operatório.

Pesou-se a criança no dia da cirurgia (13,5kg) para cálculo da medicação e anestésico local e avaliaram-se a frequência cardíaca e respiratória, iniciando-se em seguida o procedimento. O sal anestésico de eleição foi a Lidocaína 2% (Dentisply Probem, Catanduva, Brazil) 1:100.00 com epinefrina. Realizou-se anestesia local (Lidocaina 2% Dentisply Probem, Catanduva, Brazil) ao redor da lesão e em região de incisivos centrais através da técnica infiltrativa. Utilizou-se na técnica anestésica o equivalente a um tubete de solução anestésica local.

Para a realização da biópsia, houve necessidade de procedimentos de contenção física para a segurança do bebê. Utilizou-se, ainda, um abridor

de boca de borracha (Indusbelo, Londrina, PR, Brasil) transpassado por um fio dental. O abridor foi inserido na cavidade bucal e mantido em posição por uma auxiliar que também conteve os movimentos de cabeça do bebê. Durante o ato cirúrgico, trabalhou-se com uma equipe de três profissionais: o cirurgião-dentista, que executou a técnica, um auxiliar, que continha os movimentos de cabeça do bebê e mantinha o abridor de boca em posição, e um terceiro auxiliar, responsável pelo instrumental e sugador. Removeu-se completamente a lesão com margem de segurança de 2mm, descolando-a com o auxílio de um bisturi de lâmina número 15 (Endomix Ltda, Porto Alegre, RS, Brasil), retirando-a com a pinça Kelly reta 16cm (Golgran, São Paulo, Brasil) (Figura 2) e suturando-a com pontos simples com fio de seda 4.0 (Ethicon - Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil).

A lesão foi removida, acondicionada em recipiente contendo líquido fixador (Formol 10%) e encaminhada para análise anatomopatológica. Orientou-se a mãe em relação aos cuidados pós-cirúrgicos e medicou-se o paciente com analgésico (dipirona sódica gotas 500mg/mL, Medley Campinas, SP, Brasil) por um período de 24 horas, respeitando o intervalo preconizado para o medicamento. Informou-

-se a mãe do paciente quanto aos cuidados a serem tomados nas 24 horas após a cirurgia.

Uma semana após a cirurgia, o paciente retornou à Faculdade de Odontologia para consulta, quando se realizou avaliação clínica, observando-se a cicatrização satisfatória da ferida cirúrgica, favorecendo a remoção da sutura (Figura 3). Acompanhou-se a criança após um mês da cirurgia com ausência de recidiva da lesão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame microscópico da biópsia diagnóstica revelou a lesão como hiperplasia epitelial papilomatosa, consequência de processo inflamatório crônico com leve atividade e ausência de malignidade no material. A análise da lâmina revelou a presença de coilócitos sugestivos de inclusões virais (Figuras 4 e 5).

Por um lado, a incidência do vírus HPV-DNA é maior em crianças com idade de cinco anos quando comparada com a incidência nas de três anos pelo fato de a criança mais velha ter ficado mais tempo exposta ao vírus, aumentando as chances de manifestações orais da doença⁹. Por outro lado, a literatura relata que a detecção do HPV-DNA é maior nos

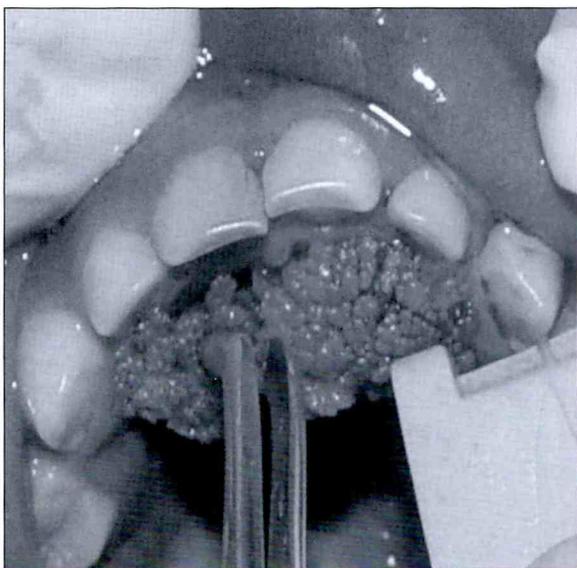


Figura 2. Remoção da lesão.

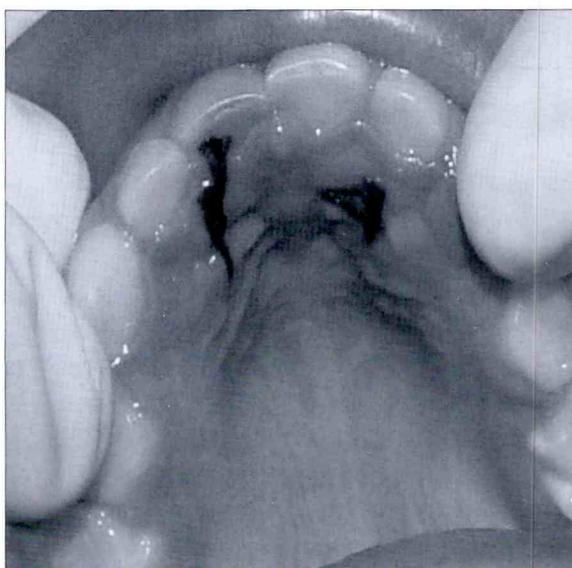


Figura 3. Acompanhamento clínico após uma semana.

três primeiros anos de vida, o que vem corroborar o diagnóstico do presente trabalho, em que o bebê apresentou a lesão pouco tempo após o nascimento com sua evolução até o momento da intervenção³.

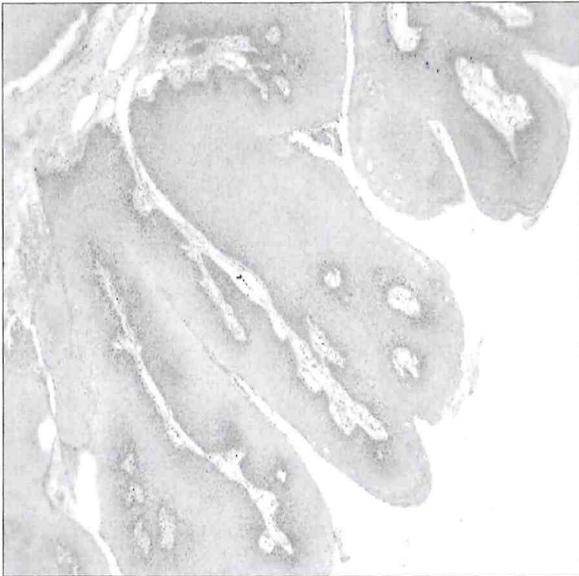


Figura 4. 50 X HE- Hiperplasia epitelial papilomatosa: o exame histológico mostrou proliferação epitelial, formando longas papilas que demonstram intensa papilomatose.

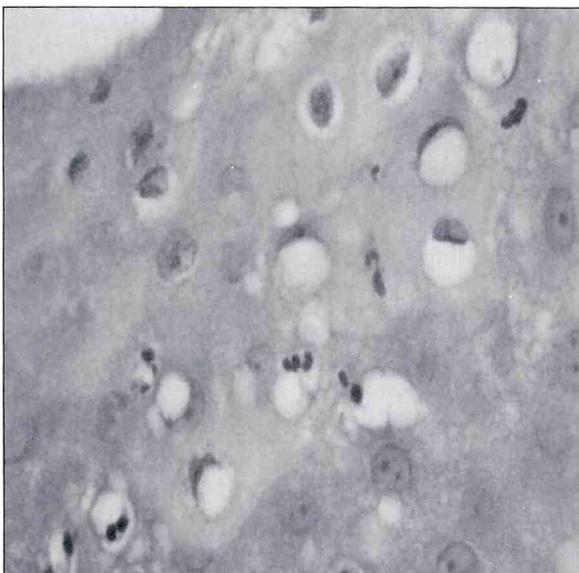


Figura 5. 100 X HE- Em área focal observam-se células epiteliais vacuolizadas (coilocitos) sugestivas de inclusões virais.

Após contágio pelo vírus HPV, há incidência maior da manifestação oral no gênero masculino. Segundo Kojima *et al.*⁹, das 37 crianças portadoras do vírus HPV, 22 eram do gênero masculino e 15 do feminino, o que corrobora o presente caso, uma vez que o gênero do bebê é o de maior incidência.

Os achados histológicos definiram a lesão como hiperplasia epitelial papilomatosa com inclusões virais; clinicamente, foi definida como uma contaminação pelo vírus HPV, por suas características clínicas e histológicas descritas na literatura. O diagnóstico realizado confirma os achados que relacionam a hiperplasia epitelial papilomatosa à lesão epitelial benigna causada pelo vírus HPV¹. A contaminação do bebê pelo vírus acontece principalmente no momento do nascimento e no período perinatal, através do contato com o vírus HPV genital da mãe¹⁹.

CONCLUSÃO

O HPV pode ser fator etiológico de hiperplasia epitelial papilomatosa e a anamnese e o exame clínico em odontopediatria devem incluir exame detalhado do paciente, visando correto diagnóstico e tratamento adequado.

AGRADECIMENTO

Ao professor João Vicente da Silva da Pontifícia Universidade Católica de Campinas, pelo auxílio na avaliação das lâminas e na obtenção das fotos.

COLABORADORES

Todos autores participaram da pesquisa e da redação do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Syrjänen S, Puranen M. Human papillomavirus infections in children: the potential role of maternal transmission. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000; 11(2): 259-74.

2. Kellokoski JK, Syrjänen SM, Chang F, Yliskoski M, Syrjänen KJ. Southern blot hybridization and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections. *J Oral Pathol Med.* 1992; 21(10):459-64.
3. Rintala MAM, Grénman SE, Järvenkylä ME, Syrjänen KJ, Syrjänen SM. High-Risk types of human papillomavirus (HPV) DNA in oral and genital mucosa of infants during their first 3 years of life: experience from the Finnish HPV Family Study. *Clin Infect Dis.* 2005; 41(12):1728-33.
4. Kui LL, Xiu HZ, Ning LY. Condyloma acuminatum and human papilloma virus infection in the oral mucosa of children. *Pediatr Dent.* 2003; 25(2):149-53.
5. Joyce JG, Tung JS, Przysocki CT, Cook JC, Lehman ED, Sands JA, *et al.* The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. *J Biol Chem.* 1999; 274(9):5810-22.
6. Chang F. Role of papillomaviruses. *J Clin Pathol.* 1990; 43(4):269-76.
7. Garlick JA, Taichman LB. Human papillomavirus infection of the oral mucosa. *Am J Dermatopathol.* 1991; 13(4):386-95.
8. Syrjänen SM, Syrjänen KJ, Happonen RP. Human papillomavirus (HPV) sequences in oral precancerous and carcinomas demonstrated by in situ DNA hybridization. *J Oral Pathol.* 1988; 17(6):273-8.
9. Kojima A, Maeda H, Kurahashi N, Sakagami G, Kubo K, Yoshimoto H, *et al.* Human papillomaviruses in the normal oral cavity of children in Japan. *Oral Oncol.* 2003; 39(8):821-8.
10. Scully C, Prime S, Maitland N. Papillomaviruses: their possible role in oral disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985; 60(2):166-74.
11. Vera-Iglesias E, García-Arpa M, Sánchez-Caminero P, Romero-Aguilera G, Cortina de la Calle P. Focal Epithelial Hyperplasia. *Actas Dermosifiliogr.* 2007; 98(9):621-23.
12. Chang F, Syrjänen S, Kellokoski J, Syrjänen K. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med.* 1991; 20(7):305-17.
13. Henke RP, Guèrin-Reverchon I, Milde-Langosch K, Strömme-Koppang H, Löning T. In situ detection of human papillomavirus Types 13 and 32 in focal epithelial hyperplasia of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med.* 1989; 18(7):419-21.
14. Herrero R, Castellangue X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balam P. Human papillomavirus and oral cancer: the international agency for research on cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95(23):1772-83.
15. Padayachee A, Van Wyk CW. Human papillomavirus (HPV) DNA in focal epithelial hyperplasia by in situ hybridization. *J Oral Pathol Med.* 1991; 20(5):210-14.
16. De Villiers EM. Heterogeneity of the human papillomavirus group. *J Virol.* 1989; 63(11):4898-903.
17. Kellokoski JK, Syrjänen SM, Kataja V, Yliskoski M, Syrjänen KJ. Acetowhite staining and its significance in diagnosis of oral mucosa lesions in women with genital HPV infections. *J Oral Pathol Med.* 1990; 19(6):278-83.
18. Zeuss MS, Miller CS, Wite DK. In situ hybridization analysis of human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991; 71(6):714-20.
19. Fredericks BD, Balkin A, Daniel HW, Schonrock J, Ward B, Frazer IH. Transmission of human papillomaviruses from mother to child. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 1993; 33(4):30-2.

Recebido em: 27/4/2009

Versão final reapresentada em: 10/2/2010

Aprovado em: 8/3/2010

Doença de Huntington: aspectos diagnósticos e implicações éticas

*Huntington's disease:
diagnostic aspects and ethical implications*

Bruna Antunes de Aguiar XIMENES¹
Eduardo Henrique TEIXEIRA²

RESUMO

Doença de Huntington é uma afecção neurodegenerativa de herança autossômica dominante, caracterizada por manifestações neurológicas, neuropsiquiátricas e disfunções autonômicas. Não há tratamento para a doença, fato que levanta questões éticas importantes diante do impacto da confirmação diagnóstica e da possibilidade de um planejamento familiar. Paciente feminina, 68 anos, há três anos com movimentos coreicos de lábios, língua, mãos e pé esquerdo, disfagia, sintomas depressivos e comprometimento de funções cognitivas de média gravidade. A ressonância magnética de crânio apresentou alterações compatíveis com doença de Huntington. Foi realizada avaliação genética, após aconselhamento da paciente e do familiar responsável, e confirmou-se a hipótese aventada. O diagnóstico deve ser feito o mais breve possível a fim de diminuir o impacto na vida do portador e de sua família e permitir um planejamento familiar. São muitas dificuldades em lidar com a confirmação do diagnóstico, principalmente quando a autonomia do paciente está comprometida, portanto é fundamental esclarecimento e aconselhamento antes e após o teste.

Termos de indexação: Doença de Huntington. Diagnóstico. Ética. Neuropsiquiatria. Testes genéticos.

¹ Residente em Psiquiatria, Hospital e Maternidade Celso Pierro. Av. John Boyd Dunlop, s/n., Jd. Ipaussurama, 13090-950, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: B.A.A. XIMENES. E-mail: <baax@hotmail.com>.

² Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Faculdade de Medicina. Campinas, SP, Brasil.

ABSTRACT

Huntington's disease is a neurodegenerative disorder with autosomal dominant inheritance, characterized by neurological manifestations and neuropsychiatric and autonomic dysfunction. There is no treatment for Huntington's disease, which raises important ethical issues upon the impact of diagnostic confirmation and the possibility of family planning. A 68-year-old female patient presented with choreiform movements of lips, tongue, hands and left foot, dysphagia, depression and impairment of cognitive functions of medium severity that had been going on for three years. Magnetic resonance imaging of the brain showed changes consistent with Huntington's disease. After advising the patient and her caregiver, genetic testing was performed and confirmed the suggested hypothesis. The diagnosis should be done as soon as possible, in order to reduce the impact on the patient's life and his or her family and to allow family planning. This diagnosis brings about difficult issues to deal with, especially when the patient's autonomy is affected. Therefore, counseling before and after the test is essential.

Indexing terms: Huntington. Disease. Diagnosis. Ethics. Neuropsychiatry. Genetic testing.

INTRODUÇÃO

A Doença de Huntington (DH) é uma afecção neurodegenerativa, com padrão de herança autossômica dominante, caracterizada por manifestações neurológicas, autonômicas e neuropsiquiátricas. Até o presente momento não há tratamento para esta doença, fato que levanta questões éticas importantes diante do impacto da confirmação diagnóstica.

A doença de Huntington é caracterizada pelo início insidioso de manifestações neurológicas que incluem movimentos coreicos, disartria, disfagia, instabilidade postural, distonia e incontinência urinária. Os sinais e sintomas psiquiátricos podem ocorrer antes, durante ou após as manifestações neurológicas. Esses sintomas estão presentes em 35% a 73% dos pacientes, porém 31% dos pacientes apresentam os sintomas psiquiátricos como a primeira manifestação da doença, sendo sempre associados à deterioração cognitiva progressiva¹. São descritas mudanças de personalidade e de humor, agitação, depressão, impulsividade e agressividade. Os sintomas cognitivos estão presentes em todos os pacientes com doença de Huntington em algum momento da doença²⁻³.

Tipicamente a sintomatologia tem início entre 40 e 50 anos, no entanto pode se manifestar entre a infância e a senilidade⁴. Trata-se de uma afecção

com padrão de herança autossômica dominante e está associada a uma expansão trinucleotídica CAG presente no cromossomo 4 do gene IT15²⁻³.

Os exames de neuroimagem revelam atrofia do núcleo caudado e do putâmen, além de redução cerebelar e do volume cerebral⁵. Existe uma alteração nos neurorreceptores dos núcleos da base, incluindo redução dos receptores dopaminérgicos⁶.

O diagnóstico clínico de doença de Huntington é realizado por um exame e uma história familiar detalhada. Os testes genéticos são fundamentais e capazes de confirmar a presença da doença, pois a diferenciação clínica é limitada devido ao amplo quadro de manifestações sintomatológicas compatíveis com outras desordens neurológicas, dificultando o diagnóstico baseado apenas na história clínica e no exame físico⁷. O teste consiste em uma Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que mostra a expansão do Trinucleotídeo (CAG). Em geral, nos indivíduos normais, os alelos podem variar de 8 a 35 unidades de CAG, enquanto os indivíduos afetados pela doença de Huntington possuem alelos com mais de 40 unidades CAG².

Se detectada a mutação genética, há a possibilidade de realização posterior do teste preditivo em familiares, permitindo o diagnóstico mesmo antes de qualquer manifestação da doença. Nesse caso, permite-se um planejamento familiar adequado.

A realização do teste genético é essencial, aumentando, porém, o número de indivíduos considerados pré-sintomáticos⁸ e ao mesmo tempo não sendo capaz de prever o início da manifestação clínica da doença, seu desenvolvimento ou sua gravidade. As decisões pela investigação genética e o aconselhamento antes e após o teste são importantes devido ao impacto causado na estrutura familiar, uma vez que as pessoas que carregam o gene irão definitivamente desenvolver a doença. O primeiro período crítico para o suicídio é imediatamente antes do recebimento do diagnóstico formal e o segundo, a fase em que a doença limita a independência do paciente⁹. Infelizmente, essa doença permanece sem cura e é fatal¹⁰.

O objetivo desse trabalho é relatar as dificuldades em confirmar o diagnóstico, as questões éticas envolvidas e as implicações na estrutura familiar.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (protocolo 413/09).

RELATO DE CASO

Paciente do sexo feminino, 68 anos, viúva, católica, aposentada, uma filha, procurou atendimento com queixa de movimentos involuntários em boca, pés, mãos e disfagia há três anos. Trazida pela irmã mais velha, que servia de cuidadora devido ao grave comprometimento, apresentava movimentos

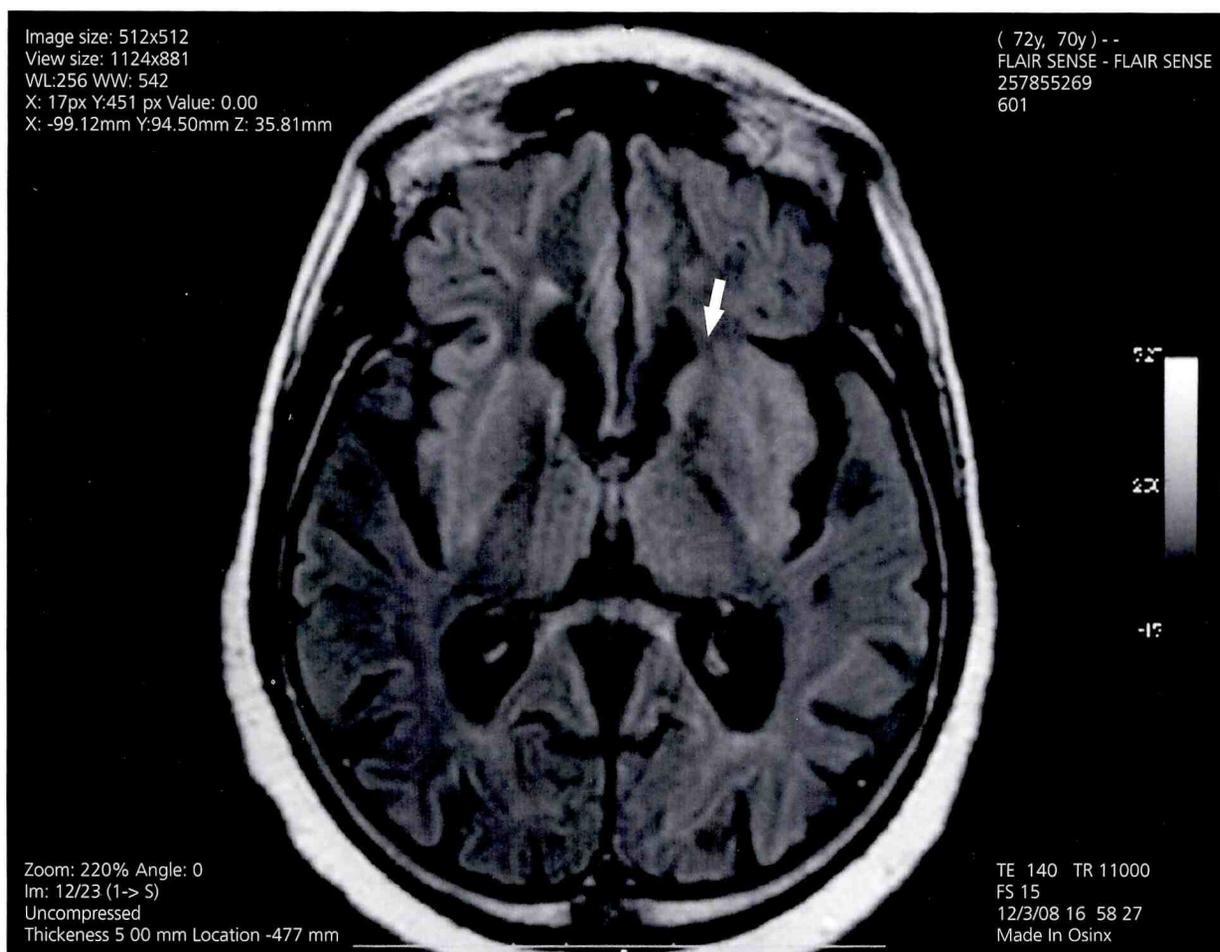


Figura 1. Caudado e putâmen diminuídos.

coreicos de lábios, língua, mãos e pé esquerdo, associados a sintomas depressivos com comprometimento de funções cognitivas de pequena a média gravidade. Havia passado por inúmeros profissionais, sem melhora do quadro ou diagnóstico esclarecedor. Apresentava antecedente de quadro depressivo recorrente de início havia mais de dez anos e de um episódio de agitação e heteroagressividade havia cinco anos após a notícia de gestação não desejada da sua filha. Fez uso de Levomepromazina, Haloperidol e Quetiapina, sem sucesso.

No primeiro atendimento foi aventada a hipótese de doença de Huntington e a paciente foi submetida a ampla investigação clínica, com a qual ela e a irmã estavam de acordo. A ressonância magnética de crânio apresentou sinais de redução volumétrica encefálica difusa, importante redução volumétrica de núcleos caudados e putamên, acompanhada de discreta rima de hiperintensidade na porção mais lateral dos putamêns: alterações compatíveis com doença de Huntington⁵ (Figura 1). No decorrer do acompanhamento clínico, foi realizada avaliação genética após aconselhamento da paciente e do familiar responsável. Foi constatada a presença de alelos de 26 e 44 repetições (um normal e um com repetição), confirmando a hipótese diagnóstica aventada.

Nesse momento a paciente estava debilitada física e mentalmente, com perda de sua autonomia, e já não conseguia mais ir às consultas. O resultado foi entregue à irmã, que decidiu por não discutir com a paciente e com os outros familiares o diagnóstico estabelecido.

DISCUSSÃO

Os testes genéticos levantam um dilema aos médicos: a informação genética é propriedade confidencial dos indivíduos testados ou os parentes biológicos têm o direito de tomar conhecimento da informação? Para o indivíduo que utiliza o teste preditivo, a aquisição dessas informações exige escolhas em relação à divulgação para os demais membros da família¹¹.

Esse caso gerou muita dúvida entre a equipe em relação aos direitos e deveres do médico, considerando os descendentes de primeira e segunda geração por parte da paciente. É dever do médico informar os outros familiares sobre os riscos da doença e sobre a possibilidade de um planejamento familiar?¹².

Segundo recomendações relativas ao uso do teste preditivo para a detecção da doença de Huntington - traçadas por um comitê formado por representantes da *International Huntington Association* (IHA) e da *World Federation Neurology* (WFN) - Grupo de Pesquisa em Coreia de Huntington -, todos os indivíduos que desejem fazer o teste devem receber informações relevantes e atualizadas, além de aconselhamento e acompanhamento multidisciplinar para que possam decidir sobre sua realização¹³.

A decisão da realização do teste é exclusiva do indivíduo interessado. A maioria dos representantes das organizações leigas considera que, se pais e filhos não chegam a um consenso e o filho deseja realizar o teste preditivo, o direito de o filho saber deve ter prioridade sobre o direito de o pai ou de a mãe não querer saber. No entanto isso é válido somente para indivíduos que atingiram a maioridade, de acordo com as leis do respectivo país¹³.

A maioria das diretrizes recomenda que os testes preditivos não sejam realizados em menores de 18 anos, porém existem alguns autores que defendem a realização em adolescentes desde que sob consentimento dos pais. Mesmo não existindo consenso, estudos revelam que as áreas pré-frontais do cérebro, envolvidas em funções executivas, como a tomada de decisões, não estão totalmente desenvolvidas até a idade adulta. Esses resultados justificam a manutenção da idade mínima de 18 anos para o teste preditivo para as doenças não tratáveis, como a doença de Huntington. Mais pesquisas sobre a avaliação de maturidade influenciarão na elaboração de um consenso sobre o assunto¹².

No Código de Ética Médica, artigo 102, a orientação é de que: "é vedado ao médico revelar

fato de que tenha conhecimento em virtude do exercício de sua profissão, salvo por justa causa, dever legal ou autorização expressa do paciente”¹⁴.

O caso descrito neste trabalho apresenta as dificuldades diagnósticas e as questões éticas envolvidas com a realização do exame de DNA. Casos semelhantes, obviamente, devem ser vistos de maneira individualizada e cuidadosa, uma vez que os filhos de indivíduos afetados pela doença de Huntington apresentam risco de 50% de virem a apresentar a doença e que um diagnóstico precoce pode tanto permitir um planejamento familiar quanto causar estigma, estresse psicológico e discriminação em potencial.

Conclui-se, por meio deste trabalho, que falta consenso quanto às questões envolvidas na realização dos exames de DNA e dos testes preditivos para doença de Huntington; que deve predominar o bom senso por parte dos médicos, pacientes e familiares; e que há a necessidade de esclarecimento e aconselhamento antes e após o teste que possibilitem um melhor manejo dos resultados.

REFERÊNCIAS

1. Ruocco HH, Lopes-Cendes I, Laurito TL, Li LM, Cendes F. Clinical presentation of juvenile Huntington disease. *Arq Neuropsiquiatr.* 2006; 64(1):5-9.
2. Laks J, Rocha M, Capitão C, Domingues RC, Ladeia G, Lima M, *et al.* Functional and motor response to low dose olanzapine in huntington's disease: case report. *Arq Neuropsiquiatr.* 2004; 62(4):1092-4.
3. Lima e Silva TC, Serra HG, Bertuzzo CS, Lopes-Cendes I. Molecular diagnosis of Huntington disease in Brazilian patients. *Arq Neuropsiquiatr.* 2000; 58(1): 11-7.
4. Walker FO. Huntington's disease. *Lancet.* 2007; 369 (9557):218-28.
5. Ruocco HH, Lopes-Cendes I, Li LM, Santos-Silva M, Cendes F. Striatal and extrastriatal atrophy in Huntington's disease and its relationship with length of the CAG repeat. *Braz J Med Biol Res.* 2006; 39 (8):1129-36.
6. Etchebehere ECSC, Lima MCL, Passos W, Maciel Jr JA, Santos AO, Ramos CD, *et al.* Brain SPECT imaging in Huntington's disease before and after therapy with olanzapine: case report. *Arq Neuropsiquiatr.* 1999; 57(3B):863-6.
7. Falk M, Vojtisková M, Lukás Z, Kroupová I, Froster U. Simple procedure for automatic detection of unstable alleles in the myotonic dystrophy and Huntington's disease loci. *Genet Test.* 2006; 10(2):85-97.
8. Lilani A. Ethical issues and policy analysis for genetic testing: Huntington's disease as a paradigm for diseases with a late onset. *Hum Reprod Genet Ethics.* 2005; 11(2):28-34.
9. Paulsen JS, Hoth KF, Stierman L. Critical periods of suicide risk in Huntington's disease. *Am J Psychiatry.* 2005; 162(4):725-31.
10. Nakamura K, Aminoff MJ. Huntington's disease: clinical characteristics, pathogenesis and therapies. *Drugs Today (Barc).* 2007; 43(2):97-116.
11. Holt K. What do we tell the children? Contrasting the disclosure of two HD families regarding risk status and predictive genetic diseases. *J Genet Couns.* 2006; 15(4):253-65.
12. Richards FH. Maturity of judgement in decision making for predictive testing for nontreatable adult-onset neurogenetic conditions: a case against predictive testing of minors. *Clin Genet.* 2006.70(5): 396-401.
13. Internacional Huntington Association, World Federation of Neurology. Guidelines for the molecular genetics predictive test in Huntington's disease. *J Med Genet.* 1994; 31:555-9.
14. Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo. Código de ética médica: e textos sobre ética, direitos e deveres dos médicos e pacientes. São Paulo; 2001.

Recebido em: 25/5/2009

Versão final reapresentada em: 21/12/2009

Aprovado em: 28/1/2010

ÍNDICE DE AUTORES

A		F	
AGUIAR, Joanna Maciel Rocha Penteado de	281	FELIPPE, Marília Bortolotto	193
ALVES, Jaciele Ferreira	7	FONSECA, André Luís Ayres da	243
ALVES, Luciane Machado	201	FONSECA, Lineu Corrêa	243
ANCONA, Mayara Caleffi	69	FONTANA, Carlos Eduardo	163
ANDRADE, Ana Maria Guimarães Mendes de Castro	193	FRANGE, Viviane Maciel Nassar	209
ÁREAS, Miguel Arcanjo	259	FREITAS, Carine Piccin de	163
ARENT, Patrícia Mendes	13	FREITAS, Paulo Fontoura	13
ARRUDA, Lúcia Helena Favaro	209		
B		G	
BRAGA, Josefina Aparecida Pellegrini	47	GUIDI, Renata Michelini	69
BRIANEZ, Natália	281	GUIMARÃES, Luciana	193
BRITO, Denise von Dolinger de	7	GUIRRO, Rinaldo Roberto de Jesus	251
BRÜCKER, Márcia Rejane	99		
BUENO, Carlos Eduardo da Silveira	163	H	
BULHÕES, Rogério Cardoso	235	HASSEN, Ana Maria Saad	35
		HOLANDA, Livia Batista	121
C		J	
CAIRO, Aurea Akemi Abe	181	JARDIM, João Carlos Moreira	235
CARCINONI, Thiago Mussato	105, 217	JOAQUIM, Ana Paula	193
CARDOSO, Silvana Maria Guida	259	JUNIOR, Reinaldo Macedo	251
CARVALHO, Carlos Roberto Ribeiro de	143		
CARVALHO, Idria Mendes de	81	L	
CARVALHO, Rachel Marin	243	LAGE, Renan	193
CASTILHO, Lísias Nogueira	105, 217	LEITE, Luísa Helena Maia	81
CASTRO, Célia Maria Machado Barbosa de	89	LEN, Claudio Arnaldo	47
CHAGAS, José Francisco Salles	105	LIBARDI, Juliana	251
COLOCO, Renata Bizigatto	121	LIEBANO, Richard Eloin	35, 201
CORRÊA, Juliana Barbosa	35, 201	LIMA, Kedma de Magalhães	89
CUNHA, Luissaulo	13	LINARELLI, Maria Conceição Barbosa	193
CUNHA, Rodrigo Sanches	163	LUGO, Fábio	181
CUSTÓDIO, Janaina	7		
D		M	
DALDON, Patrícia Érica Christofolletti	209	MACHADO, Paula Aballo Nunes	81
DAVINI, Felipe	163	MARIALVA, José Eduardo de	259
DELGADO, Marília	89	MARTINO, Milva Maria Figueiredo de	21
		MASSAROTTO, Ana Carolina	193
E		MEYER, Laura Guimarães Corrêa	193
ESCANHOELA, Cecilia Amelia Fazzio	269	MILFONT, José Cocifran	217
		MULINARI-BRENNER, Fabiane	153

N		S	
NASCIMENTO, Tamara Camarota	281	SANTIAGO, Marcelo Castioni	193
O		SANTOS, Jaqueline Gomes Souza dos	7
OLIVEIRA, Emmanuel Machado	243	SCODELER, Natália Folco	69
P		SILVA, Carlos Alberto da	251
PALLOS, Débora	235	SILVA, Claudia Aparecida Rosa da	21
PALM, Rosibeth Del Carmen Muñoz	131	SILVA, Fernanda Marques	7
PASCHOAL, Mário Augusto	69	SILVA, Gustavo Henrique da	269
PINHEIRO, Sérgio Luiz	281	SILVA, Sandra Regina Echeverria Pinho da	281
PINTO, Elisabete Graisfimberg	259	SILVEIRA, Cláudia Fernandes de Magalhães	163
PINTO, Wagner de Jesus	259	SOARES, Ivy Faigle	153
POLITANO, Gabriel Tilli	281	SOARES, Sílvia Maria de Toledo Piza	143
PORTERO-MCLELLAN, Kátia Cristina	121	T	
Q		TEDRUS, Gloria Maria de Almeida Souza	243
QUIRINO, Maria Rozeli de Souza	235	TEIXEIRA, Eduardo Henrique	287
R		TOLDRÁ, Rosé Colom	131
RACY, Heloisa Helena Mazzi Jorge	35	TOSTES, Meire Aparecida	47
RÊGO, Rossana Sette de Melo	89	V	
REZENDE, Paulo Henrique Nogueira	235	VARZIM, Carlos Augusto Bastos	105
ROCKENBACH, Maria Ivete Bolzan	99	VASCONCELLOS, Ana Lúcia Ribeiro de	81
RODRIGUES, Tiago Moura	105	von DOLINGER, Elias José Oliveira	7
ROSSI, Patrícia Migliorim	99	X	
		XIMENES, Bruna Antunes de Aguiar	287

ÍNDICE DE ASSUNTOS

A		Emoções	22
Adultos	243	Enfermagem	22
Alimentos	82	Epilepsia sintomática	243
Alopecia	154	Estimulação elétrica	201
Alterações mitocondriais	269	Estudantes de medicina	14
Analgesia	47	Ética	287
Anatomia	164	F	
Androgênios	154	Fatores de risco	235
Anemia falciforme	47	Folículo piloso	154
Anti-hipertensivos	194	Frequência cardíaca	70
Antimicóticos	90	H	
Aterosclerose	259	Hemopernia	106
Azoopernia	106	Hepatopatia	269
C		Higiene	82
Candida	90	Hiper-homocisteinemia	259
Capacitação profissional	132	HIV	90
Comorbidade	194	Homocisteína	259
Comportamento	251	I	
Contaminação	8	Imobilização	251
Criança	47	Imunização	14
D		Incidência	243
Depressão	243	Incisivo	164
Dermatologia	209	Infertilidade	106
Dermoscopia	209	Interações de medicamentos	194
DHGNA	269	L	
Diabetes <i>Mellitus</i>	235	Labirinto em cruz elevado	251
Diagnóstico	287	Laparoscopia	217
Diagnóstico bucal	164	Litíase	106
Dieta	122	M	
Doença de Huntington	287	Mandíbula	100
Doença pulmonar obstrutiva crônica	144	Mão (anatomia)	8
Doenças cardiovasculares	259	Microscopia	164
Doenças respiratórias	36	Minoxidil	154
Doenças transmissíveis	14	Modalidades de fisioterapia	36, 201
Dor	47	Mucosa bucal	281
Ductos paramesonáfcicos	106		
E			
Educação alimentar e nutricional	82		
Educação em saúde	82		

N			
Neoplasias do endométrio	182	Saúde e uterúculo	106
Nervo mandibular	100	Serviço Hospitalar de Nutrição	122
Neuropsiquiatria	287	Sistema nervoso autônomo	70
Nevos e melanomas	209	Sistema Único de Saúde	132
		Sobrevida	182
		Sono	22
O			
Obesidade	70	T	
Odontopediatria	281	Terapêutica	194
Onicomicose	90	Terapia a laser de baixa intensidade	201
Óxido nítrico	259	Terapia ocupacional	132
		Terapia por ultrassom	201
P		Terapia respiratória	36
Papiloma	281	Testes genéticos	287
Perda óssea alveolar	235	Tolerância ao exercício	144
Pessoal de saúde	8	Trabalho em turnos	22
		Transplante de pele	201
R		Treinamento em serviço	132
Radiografia panorâmica	100	U	
Ratos	251	Ureter	217
Reabilitação	144		
Recidiva	182	V	
Recursos humanos em saúde	132	Vacinação	14
		Veia cava inferior	217
S			
Satisfação do paciente	122		
Saúde da família	82		

Agradecimentos

Acknowledgements

A Revista de Ciências Médicas contou com a colaboração de especialistas *ad hoc* para avaliação dos trabalhos a ela submetidos em 2009.

A

Aarão Mendes Pinto Neto	Unicamp
Adriana Garófalo	Unifesp
Adriane Elisabete Costa Antunes	Faculdade de Ciências Aplicadas
Airton José Martins	PUC-Campinas
Akira Ishida	Unifesp
Alberto Tesconi Croci	USP
Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte	UFsCAR
Ana Karina de Mello Bezerra Sodré	UFC
Anaclara Ferreira Veiga Tipple	UFG
Anaglória Pontes	Unesp
Antonio Fernando Pereira Falcão	UFBA
Antonio Lucindo Bengtson	UMS

C

Carlos Alberto Rech	Universidade Passo Fundo
Carlos Tadayuki Oshikata	PUC-Campinas
Carmen Elisa Villalobos Tapia	PUC-Campinas
Carolina Vianna Nunes	USP
César Augusto Garbin	Universidade Passo Fundo
Cláudio Fusaro	USF

D

Daniele Ferreira da Silva	UFUJM
Denise Machado Mourão	UFV

E

Edison Capp	UFRGS
Edmir Américo Lourenço	Faculdade de Medicina Jundiaí
Eduardo Mello de Capitani	Unicamp
Eliana Marturano Amaral	Unicamp

Elias England	UFRJ
Elisete Silva Pedrazzani	UFsCAR
Erna Vogt de Jong	UFRS
F	
Fátima Aparecida Caromano	USP
Fernando Antonio de Almeida	PUC-SP
G	
Gilles Landman	Faculdade de Medicina ABC
Gilson Edmar Gonçalves e Silva	UFPE
H	
Homero Oliveira de Arruda	Faculdade de Medicina Jundiaí
I	
Isaac Rosa Marques	Universidade Santo Amaro
Íscia Teresinha Lopes Cendes	Unicamp
J	
Jaime Olbrich Neto	Unesp
Jeanne Oiticica	USP
Jesus Djalma Pecora	USP
João Hamilton Romaldini	PUC-Campinas
João Luiz Garcia Duarte	PUC-SP
João Luiz de Carvalho Pinto e Silva	Unicamp
João Quagliotti Durigan	UFPB
Jocelim Mastrodi Salgado	USP
Joice Betini	Unimep
Jorge Willian Leandro	Uninove
José Eduardo Martinez	PUC-Sorocaba
José Goldberg	Unesp
José Roberto Jardim	Unifesp
Josedira C. do Rego	UFPE
Júlia Laura Delbue Bernardi	PUC-Campinas
K	
Kátia Regina Martini Rodrigues	PUC-Campinas
Kelly Cristina Pagotto Fogaça	Unimep
Kunil Jabuti Rabello Coelho	Unesp
L	
Lygia Vuik de Aquino	Colégio Pedro II
Lucia Helena Fávaro Arruda	PUC-Campinas
Luiz Garcia Duarte	PUC-SP
M	
Manoel de Almeida Moreira	UEPA
Marcelo Zugaib	USP

Márcia Regina Víto	UFCSPA
Márcia Rodrigues Garcia Tamosauskas	Faculdade de Medicina ABC
Margarete Tereza Gottardo	Famerp
Margareth Oda	USP
Maria de Lourdes Pessole Biondo-Simões	UFPR
Maria do Carmo Borges de Souza	UFRJ
Maria Ignês Zanetti Feltrim	USP
Maria de Lourdes Pessole Biondo-Simões	UFPR
Maria José Costa Sampaio Moura	PUC-Campinas
Maria Sonia Dall Bello	UFF
Mário Augusto Paschoal	PUC-Campinas
Margarete Teresa Gottardo de Almeida	Faculdade de Medicina São José do Rio Preto
Marta Heloisa Lopes	USP
Mauro dos Santos Volpi	Unesp
Michelle Selma Hahn	UfsCAR
Milena Pelosi Rizk Sperling	USF
Míriam Nacaganni Sotto	USP
Mônica Medeiros Kother Macedo	PUC-RS

N

Nara Macedo Botelho Brito	UEPA
Nelson de Queiroz Mistura	Unisa

O

Orivaldo Tavano	USP
-----------------	-----

P

Paulo Gonçalves de Oliveira	UnB
Pedro Caruso	USP

R

Renata Simões Jovino Silveira	UFPE
Rinaldo Roberto de Jesus Guirro	Unimep
Rogério Bonassi Machado	Faculdade Medicina - Jundiaí
Rosa Gitana Krob Meneghetti	Unimep
Roseli Esquerdo Lopes	UFsCAR

S

Sandra Fátima Menosi Gualandro	USP
Sérgio Luiz Pinheiro	PUC-Campinas
Svetlana Agapejev	UNESP

V

Valdenice Aparecida De Menezes	UPE
Vânia Aparecida Leandro Merhi	PUC-Campinas
Vera Lúcia Nunes Pannuro	UFRJ
Vivian Wahrlich	UFF

Z

Zeila Maria de Figueiredo Carvalho	UFC
------------------------------------	-----

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A *Revista de Ciências Médicas* publica artigos originais relacionados com as diversas áreas da saúde, buscando incentivar a produção de trabalhos interdisciplinares, nas seguintes categorias:

Artigos originais: contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original inédita que possam ser reproduzidos. **Revisão:** síntese crítica de conhecimentos disponíveis sobre determinado tema, mediante análise e interpretação de bibliografia pertinente, de modo a conter uma análise crítica e comparativa dos trabalhos na área, que discuta os limites e alcances metodológicos. Serão publicados até dois trabalhos por fascículo. **Atualização:** destinada a relatar informações publicadas sobre tema de interesse para determinada especialidade. **Notas Prévias:** notas relatando resultados prévios ou preliminares de pesquisas em andamento. **Opinião:** opinião qualificada sobre tópico específico em medicina e ciências correlatas e **Relatos de casos.**

Os conceitos emitidos nos artigos e na comunicação são de total responsabilidade dos autores. Não serão aceitos ensaios terapêuticos.

Pesquisas envolvendo seres humanos

Resultados de pesquisas relacionadas a seres humanos devem ser acompanhados de cópia do parecer do Comitê de Ética da Instituição de origem, ou outro credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde. Além disso, deverá constar, no último parágrafo do item Métodos, uma clara afirmação do cumprimento dos princípios éticos contidos na Declaração de Helsinki (2000), além do atendimento a legislações específicas do país no qual a pesquisa foi realizada.

Nos experimentos com animais devem ser seguidos os guias da Instituição dos Conselhos Nacionais de Pesquisa sobre o uso e cuidado dos animais de laboratório.

Registros de Ensaio Clínicos

Artigos com resultados de pesquisas clínicas devem apresentar um número de identificação em um dos Registros de Ensaio Clínicos validados pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE. O número de identificação deverá ser registrado ao final do resumo.

Procedimentos editoriais

1) Avaliação de manuscritos

Os autores devem sugerir pelo menos três revisores competentes em seu campo e também podem sugerir quais devem ser excluídos do processo de revisão.

A revisão dos textos submetidos à Revista, que atenderem à política editorial, só terá início se os manuscritos encaminhados estiverem de acordo com as Instruções aos Autores. Caso contrário, **serão devolvidos para adequação às normas**, inclusão de carta ou de outros documentos eventualmente necessários.

Recomenda-se fortemente que o(s) autor(es) busque(m) assessoria linguística profissional (revisores e/ou tradutores certificados em língua portuguesa e inglesa) antes de submeter(em) originais que possam conter incorreções e/ou inadequações morfológicas, sintáticas, idiomáticas ou de estilo. Devem ainda evitar

o uso da primeira pessoa “meu estudo...”, ou primeira pessoa do plural “percebemos...”, pois em texto científico o discurso deve ser impessoal, sem juízo de valor e na terceira pessoa do singular.

Originais identificados com incorreções e/ou inadequações morfológicas ou sintáticas **serão devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação** quanto ao mérito do trabalho e à conveniência de sua publicação.

Aprovados nesta fase, os manuscritos serão encaminhados aos revisores *ad hoc* selecionados pelos editores e autores. Cada manuscrito será enviado para dois revisores de reconhecida competência na temática abordada. Em caso de desacordo, o original será enviado para uma terceira avaliação.

O processo de avaliação por pares é o sistema de *blind review*, em procedimento sigiloso quanto à identidade tanto dos autores quanto dos revisores. Por isso os autores deverão empregar todos os meios possíveis para evitar a identificação de autoria do manuscrito.

No caso da identificação de conflito de interesse da parte dos revisores, o Comitê Editorial encaminhará o manuscrito a outro revisor *ad hoc*.

Os pareceres dos consultores comportam três possibilidades: a) aceitação integral; b) aceitação com reformulações; c) recusa integral. Em quaisquer desses casos, o autor será comunicado.

A decisão final sobre a publicação ou não do manuscrito é sempre dos editores, aos quais é reservado o direito de efetuar os ajustes que julgarem necessários. Na detecção de problemas de redação, o manuscrito será devolvido aos autores para as alterações devidas; o trabalho reformulado deve retornar no prazo máximo determinado.

Manuscritos aceitos: manuscritos aceitos poderão retornar aos autores para aprovação de eventuais alterações, no processo de editoração e normalização, de acordo com o estilo da Revista.

Provas: serão enviadas provas tipográficas aos autores para a correção de erros de impressão. As provas devem retornar ao Núcleo de Editoração na data estipulada. Outras mudanças no manuscrito original não serão aceitas nesta fase.

2) Submissão de trabalhos

Serão aceitos trabalhos acompanhados de carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho e área temática, declaração de que o trabalho está sendo submetido apenas à Revista de Ciências Médicas e de concordância com a cessão de direitos autorais.

Caso haja utilização de figuras ou tabelas publicadas em outras fontes, deve-se anexar documento que ateste a permissão para seu uso.

Autoria: o número de autores deve ser coerente com as dimensões do projeto. O crédito de autoria deverá ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho, ou análise e interpretação dos dados. Não se justifica a inclusão de nome de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima, podendo, neste caso, figurar na seção Agradecimentos.

Os manuscritos devem conter, na página de identificação, explicitamente, a contribuição de cada um dos autores.

3) Apresentação do manuscrito

Enviar os manuscritos para o Núcleo de Editoração da Revista em quatro cópias, preparados em espaço duplo com fonte Arial 11, acompanhados de cópia em disquete ou CD-ROM. O arquivo deverá ser gravado em editor de texto similar ou superior à versão 97-2003 do *Word (Windows)*. Os nomes do autor e do arquivo deverão estar indicados no rótulo do disquete ou CD-ROM.

Das quatro cópias descritas no item anterior, três deverão vir sem nenhuma identificação dos autores, para que a avaliação possa ser realizada com sigilo; porém, deverão ser completas e idênticas ao original, omitindo-se apenas esta informação. É fundamental que o escopo do artigo **não contenha qualquer forma de identificação da autoria**, o que inclui referência a trabalhos anteriores do(s) autor(es), da instituição de origem, por exemplo.

O texto deverá ter de 15 a 20 laudas. As folhas deverão ter numeração personalizada desde a folha de rosto (que deverá apresentar o número 1). O papel deverá ser de tamanho A4, com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).

Os artigos devem ter, aproximadamente, 30 referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de 50.

Versão reformulada: a versão reformulada deverá ser encaminhada em três cópias completas, em papel, e em disquete ou CD-ROM etiquetado, indicando o número do protocolo, o número da versão, o nome dos autores e o nome do arquivo. **É expressamente proibida a devolução da versão eletrônica anterior.**

O texto do artigo deverá empregar fonte colorida (cor azul) para todas as alterações, juntamente com uma carta ao editor, reiterando o interesse em publicar nesta revista e informando quais alterações foram processadas no manuscrito. Se houver discordância quanto às recomendações dos revisores, o(s) autor(es) deverão apresentar os argumentos que justificam sua posição. O título e o código do manuscrito deverão ser especificados.

Página de título deve conter:

- a) título completo - deve ser conciso, evitando excesso de palavras, como "avaliação do....", "considerações acerca de..." "estudo exploratório....";
- b) *short title* com até 40 caracteres (incluindo espaços), em português (ou espanhol) e inglês;
- c) nome de todos os autores por extenso, indicando a filiação institucional de cada um. Será aceita uma única titulação e filiação por autor. O(s) autor(es) deverá(ão), portanto, escolher, entre suas titulações e filiações institucionais, aquela que julgar(em) a mais importante;
- d) Todos os dados da titulação e filiação deverão ser apresentados por extenso, sem siglas;
- e) Indicação dos endereços completos de todas as universidades às quais estão vinculados os autores;
- f) Indicação de endereço para correspondência com o autor para a tramitação do original, incluindo fax, telefone e endereço eletrônico.

Observação: esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores.

Resumo: todos os artigos submetidos em português ou espanhol deverão ter resumo no idioma original e em inglês, com um mínimo de 150 palavras e máximo de 250 palavras.

Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português, além do *abstract* em inglês.

Para os artigos originais, os resumos devem ser estruturados destacando objetivos, métodos básicos adotados, informação sobre o local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo.

Para as demais categorias, o formato dos resumos deve ser o narrativo, mas com as mesmas informações.

O texto não deve conter citações e abreviaturas. Destacar no mínimo três e no máximo seis termos de indexação, utilizando os descritores em Ciência da Saúde - DeCS - da Bireme <<http://decs.bvs.br>>.

Texto: com exceção dos manuscritos apresentados como Revisão, Atualização, Relatos de Casos e Notas Prévias, os trabalhos deverão seguir a estrutura formal para trabalhos científicos:

Introdução: deve conter revisão da literatura atualizada e pertinente ao tema, adequada à apresentação do problema, e que destaque sua relevância. Não deve ser extensa, a não ser em manuscritos submetidos como Artigo de Revisão.

Métodos: deve conter descrição clara e sucinta do método empregado, acompanhada da correspondente citação bibliográfica, incluindo: procedimentos adotados; universo e amostra; instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação; tratamento estatístico.

Informar que a pesquisa foi aprovada por Comitê de Ética credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde e fornecer o número do processo.

Ao relatar experimentos com animais, indicar se as diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais - ou se qualquer lei nacional relativa aos cuidados e ao uso de animais de laboratório - foram seguidas.

Análise estatística: os autores devem demonstrar que os procedimentos estatísticos utilizados foram não somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também corretamente interpretados. Os níveis de significância estatística (ex. $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) devem ser mencionados.

Resultados: sempre que possível, os resultados devem ser apresentados em tabelas ou figuras, elaboradas de forma a serem auto-explicativas e com análise estatística. Evitar repetir dados no texto.

Tabelas, quadros e figuras devem ser limitados a cinco no conjunto e numerados consecutiva e independentemente com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de menção dos dados, e devem vir em folhas individuais e separadas, com indicação de sua localização no texto. **É imprescindível a informação do local e ano do estudo.**

A cada um se deve atribuir um título breve. Os quadros e tabelas terão as bordas laterais abertas.

O autor se responsabiliza pela qualidade das figuras (desenhos, ilustrações, tabelas, quadros e gráficos), que deverão permitir redução sem perda de definição, para os tamanhos de uma

ou duas colunas (7 e 15cm, respectivamente), **pois é expressamente proibido o formato paisagem**. Figuras digitalizadas deverão ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 dpi.

As figuras deverão ser enviadas em impressão de alta qualidade, em preto-e-branco e/ou diferentes tons de cinza e/ou hachuras.

É necessário o envio dos gráficos, separadamente, em arquivos no formato WMF (Windows Metafile) e no formato do programa em que foram gerados (SPSS, Excel), acompanhados de seus parâmetros quantitativos, em forma de tabela e com nome de todas as variáveis.

A publicação de imagens coloridas, após avaliação da viabilidade técnica de sua reprodução, será custeada pelo(s) autor(es). Em caso de manifestação de interesse por parte do(s) autor(es), a Revista de Ciências Médicas providenciará um orçamento dos custos envolvidos, que poderão variar de acordo com o número de imagens, sua distribuição em páginas diferentes e a publicação concomitante de material em cores por parte de outro(s) autor(es).

Uma vez apresentado ao(s) autor(es) o orçamento dos custos correspondentes ao material de seu interesse, este(s) deverá(ão) efetuar depósito bancário. As informações para o depósito serão fornecidas oportunamente.

Discussão: deve explorar, adequada e objetivamente, os resultados, discutidos à luz de outras observações já registradas na literatura.

Conclusão: apresentar as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. **São expressamente proibidas citações bibliográficas nesta seção.**

Agradecimentos: podem ser registrados agradecimentos, em parágrafo não superior a três linhas, dirigidos a instituições ou indivíduos que prestaram efetiva colaboração para o trabalho.

Anexos: deverão ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Caberá aos editores julgar a necessidade de sua publicação.

Abreviaturas e siglas: deverão ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas àquelas usadas convencionalmente ou sancionadas pelo uso, acompanhadas do significado, por extenso, quando da primeira citação no texto. Não devem ser usadas no título e no resumo.

Referências de acordo com o estilo Vancouver

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, seguindo a ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto, conforme o estilo *Vancouver*.

Nas referências com dois até o limite de seis autores, citam-se todos os autores; acima de seis autores, citam-se os seis primeiros autores, seguido de *et al*.

As abreviaturas dos títulos dos periódicos citados deverão estar de acordo com o *Index Medicus*.

Não serão aceitas citações/referências de **monografias** de conclusão de curso de graduação, **de trabalhos** de Congressos, Simpósios, Workshops, Encontros, entre outros, e de **textos não publicados** (exemplos, aulas, entre outros).

Se um trabalho não publicado de autoria de um dos autores do manuscrito for citado (ou seja, um artigo *in press*), será necessário incluir a carta de aceitação da revista que publicará o referido artigo.

Se dados não publicados obtidos por outros pesquisadores forem citados pelo manuscrito, será necessário incluir uma carta de autorização, do uso dos mesmos por seus autores.

Citações bibliográficas no texto: deverão ser colocadas em ordem numérica, em algarismos arábicos, meia linha acima e após a citação, e devem constar da lista de referências. Se forem dois autores, citam-se ambos ligados pelo "&"; se forem mais de dois, cita-se o primeiro autor, seguido da expressão *et al*.

A exatidão e a adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo são de responsabilidade do autor. Todos os autores cujos trabalhos forem citados no texto deverão ser listados na seção de Referências.

Exemplos

Artigo com um autor

Guimarães CA. Revisão sistemática da pesquisa em animais. Acta Cir Bras. 2009; 24(1):67-8.

Artigo com mais de seis autores

Miasso AI, Oliveira RC, Silva AEBC, Lyra Junior DP, Gimenes FRE, Fakh FT, *et al*. Erros de prescrição em hospitais brasileiros: um estudo exploratório multicêntrico. Cad Saúde Pública. 2009; 25(2):313-20.

Artigo em suporte eletrônico

Elias N, Tarasoutchi F, Spina GS, Sampaio RO, Pomerantzeff PMA, Laurindo FR, *et al*. Fibrose miocárdica e remodelamento ventricular na insuficiência aórtica crônica importante. Arq Bras Cardiol [periódico na Internet]. 2009 [citado 2009 mar 4]; 92(1):63-7. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2009000100010&lng=pt&nrm=iso>. doi: 10.1590/S0066-782X2009000100010.

Livro

Braunwald EK, Dennis L, Hauser SL, Fauci A, Longo DL, Jameson JL. Harrison medicina interna. 17ª ed. São Paulo: McGraw-Hill Interamericana; 2009. v.2.

Livro em suporte eletrônico

Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H, editors. Hematology 2009. [monograph online]. Germany: Flying Publisher; 2009 [cited 2009 Mar 4]. Available from: <<http://www.hepatologytextbook.com/hepatology2009.pdf>>.

Capítulo de livros

Fernandes JL, Viana SL. Avaliação por imagem das doenças reumáticas. In: Moreira C, Pinheiro GRC, Marques Neto JF. Reumatologia essencial. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009. cap. 6.

Capítulo de livro em suporte eletrônico

Hepatitis E: epidemiology, transmission and natural history. In: Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H, editors. Hematology 2009. [monograph online]. Germany: Flying Publisher; 2009 [cited 2009 Mar 4]. Available from: <<http://www.hepatologytextbook.com/hepatology2009.pdf>>.

Dissertações e teses

Viegas K. Prevalência de diabetes *mellitus* na população de idosos de porto alegre e suas características sociodemográficas e de saúde [tese]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2009.

Texto em formato eletrônico

Ministério da Saúde. Saúde como estilo de vida: atitudes simples e hábitos saudáveis previnem doenças e trazem qualidade de vida. Brasília, 2009 [acesso 2009 mar 4]. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalhes&id_area=124&CO_NOTICIA=2059>.

Programas de Computador

Statistical Package for the Social Sciences. SPSS statistics base, version 17.0. Chicago; 2008.

Para outros exemplos recomendamos consultar as normas do *Committee of Medical Journals Editors* (Grupo Vancouver) (<http://www.icmje.org>).

LISTA DE CHECAGEM

- Declaração de responsabilidade e transferência de direitos autorais assinada por cada autor.
- Enviar ao editor quatro vias do original (um original e três cópias) e um disquete ou CD, etiquetado com as seguintes informações: nome dos autores e nome do arquivo. Na reapresentação incluir o número do protocolo.
- Verificar se o texto, incluindo resumos, tabelas e referências, está reproduzido com letras Arial, corpo 11 e espaço duplo, e com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).
- Verificar se estão completas as informações de legendas das figuras e tabelas.
- Preparar página de rosto com as informações solicitadas.
- Incluir o nome de agências financiadoras e o número do processo.
- Indicar se o artigo é baseado em tese/dissertação, colocando o título, o nome da instituição, o ano de defesa e o número de páginas.
- Incluir título do manuscrito, em português e inglês.
- Incluir título abreviado (*short title*), com 40 caracteres, para fins de legenda em todas as páginas

- Incluir resumos estruturados para trabalhos e narrativos, para manuscritos que não são de pesquisa, com até 150 palavras nos dois idiomas, português e inglês, ou em espanhol, nos casos em que se aplique, com termos de indexação
- Verificar se as referências estão normalizadas segundo estilo *Vancouver*, ordenadas na ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto e se todas estão citadas no texto
- Incluir permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas publicadas
- Parecer do Comitê de Ética da Instituição.

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE E TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS

Cada autor deve ler e assinar os documentos (1) Declaração de Responsabilidade e (2) Transferência de Direitos Autorais.

Primeiro autor:

Autor responsável pelas negociações: _____ Título do manuscrito: _____

1. Declaração de responsabilidade: todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar declarações de responsabilidade nos termos abaixo:

- certifico que participei da concepção do trabalho para tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo, que não omiti quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo;
- certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na íntegra, ou qualquer outro trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, não foi enviado a outra Revista e não o será, enquanto sua publicação estiver sendo considerada pela Revista de Ciências Médicas, quer seja no formato impresso ou no eletrônico.

Assinatura do(s) autor(es) _____ Data ____/____/____

2. Transferência de Direitos Autorais: "Declaro que, em caso de aceitação do artigo, a Revista de Ciências Médicas passa a ter os direitos autorais a ele referentes, que se tornarão propriedade exclusiva da Revista, vedado a qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente agradecimento à Revista".

Assinatura do(s) autor(es) _____ Data ____/____/____

Toda correspondência deve ser enviada à Revista Ciências Médicas no endereço abaixo

Núcleo de Editoração SBI/CCV - *Campus II*
 Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP, Brasil.
 Fone/Fax: +55-19-3343-6875
 E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br
 Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/centros/ccv>

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The "**Revista de Ciências Médicas**" publishes articles related to the several fields of health, with the purpose of stimulating the production of interdisciplinary works, in the following categories: **Original articles**: contributions to disseminate results of inedited original research that can be reproduced. **Review**: article including the available knowledge about a particular subject, through the analysis and interpretation of the relevant bibliography so as to contain a critical and comparative analysis to works done in the area that discuss the methodological limits. Only 2 papers/issue will be published. **Current Comments**: article reporting information published about a subject of interest to a particular specialty. Previous **Notes**: notes reporting previous or preliminary results of researches in progress. **Opinion**: qualified opinion on a specific topic in medicine and correlated sciences and **Case Reports**.

The concepts emitted in the articles and communication are of total responsibility of the authors. Therapeutic essays will not be accepted.

Research involving living beings

Results of research including living beings should be accompanied by a copy of the opinion of the Research Ethics Committee of the Institution of origin or another certified National Council of Health. Furthermore, the last paragraph of the item Methods should contain a clear affirmation of abiding by the ethical principles contained in the Declaration of Helsinki (2000) and of being in agreement with the specific legislation of the country where the research took place.

Experiments with animals should follow the institutional guides of the National Councils of Research on the use and care of laboratory animals.

Records of Clinical Trials

Articles with results of clinical researches should present a number of identification in one of the Records of Clinical Trials validated by the World Health Organization (WHO) criteria and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria whose addresses are available at the ICMJE site. The identification number should be located at the end of the abstract.

Editorial procedures

1) Manuscript assessment

Authors should suggest at least three competent reviewers in their field and may also suggest individuals whom they wish to have excluded from the review process.

Texts submitted to the journal for review that are in agreement with the editorial policy will only start if they are also in agreement with the "instructions for authors." If not, **they will be returned so that they can be formatted according to the rules** or to include a letter or other documents that may become necessary.

It is strongly recommended that the authors seek for professional linguistic advisement (certified reviewers or translators of Portuguese and English) before they submit articles that may contain errors and/or morphological, syntax, idiomatic or stylistic inadequacies. The use of the first person

of the singular or plural should be avoided since scientific discourses should be impersonal and not contain judgment of value.

Original articles identified with errors or morphological and syntax inadequacies **will be returned even before they are submitted to assessment regarding** the merit of the work and the convenience of its publication.

The manuscripts that are approved in this phase will be sent to ad hoc referees (reviewers) selected by the editors and authors. Each manuscript will be sent to two reviewers of known competence in the selected theme. If they are not in agreement, the manuscript will be sent to a third referee.

The peer review assessment is the blind review system where the identity of the authors and the referees are kept secret. Thus, the authors should do everything possible to avoid the identification of the authors of the manuscript.

If there is a conflict of interest on the part of the referees, the Editorial Committee will send the manuscript to another ad hoc referee.

The opinions of the referees consist of three possibilities: a) full acceptance; b) accepted with reformulations; c) fully refused. They authors will be notified whatever the case.

The final decision regarding the publishing of the article is always from the editors and they are allowed to make any adjustments they find necessary. If there are essay problems, the text will be returned to the authors so that corrections are made within the maximum stipulated period.

Accepted manuscripts: accepted manuscripts can be returned to the authors for approval of changes that were made in the editing and formatting processes, according to the style of the journal.

Copies: typographical copies will be sent to the others for correction of printing errors. The copies should return to the Núcleo de Editoração on the stipulated deadline. Other changes in the original manuscript will not be accepted during this phase.

2) Submission of works

Works must be accompanied by a letter signed by all authors describing the type of work and thematic area, declaring that the manuscript is being presented only to the Journal of Medical Sciences and agreeing to transfer the copyright to the journal.

If figures and tables published elsewhere are used, the authorization for their use must also be attached to the manuscript.

Authorship: the number of authors must be coherent with the dimensions of the project. Authorship credit must be based on substantial contributions, such as conception and design, or data analysis and interpretation. Including the names of authors who do not fit within the parameters listed above is not justified. Other contributors may be cited in the Acknowledgement section.

The identification page of the manuscripts should contain explicitly how each one of the authors contributed.

3) Presentation of the manuscript

Please send four copies of the manuscript to the Núcleo de Editoração of the Journal formatted with double spacing between the lines and font Arial 11. The material should also be sent in floppy disc or CD-ROM. The file should be saved in a text editor similar or above version 97-2003 of MSWord (Windows). The names of the authors or file should be printed on the label of the floppy disc or CD-ROM.

Of the four copies mentioned above, three should come without any identification of the authors so that the assessment can be done secretly; however they should be complete and identical to the original manuscript, omitting only the authorship. It is essential that the scope of the article **does not contain any form of identification of the authors**, which includes, for example, references to previous works of one or more of the authors or the institution where the work was done.

The text should contain from 15 to 20 pages. The pages must have personalized numbering starting with the cover page which should be number 1. The paper must be size A4 with at least 2.5cm of upper and lower margins and 3cm of left and right margins.

The articles should have approximately 30 references, except for review articles, which may contain about 50 references.

Reformulated version: the reformulated version must be sent in three complete copies, in paper and in a floppy disc or CD-ROM with a label indicating the number of the protocol, the version number, the name of the authors and the name of the file. **It is absolutely forbidden to return the previous version.**

The text of the article must use a colored font (blue) for all changes, together with a letter to the editor confirming the interest in publishing in this journal and informing what changes were made in the manuscript. If there is disagreement regarding the recommendations of the referees, the authors should present the arguments that justify their stance. The manuscript title and code should be specified.

The title page should contain:

a) full title - must be concise, avoiding excess words such as "assessment of...", "considerations on...", "exploratory study...";

b) short title with up to 40 characters in Portuguese (or Spanish) and English;

c) full name of all the authors indicating where each one works. Each author is allowed one employee and one title. The authors should therefore choose among their titles and employees those that they judge to be most important;

d) All data regarding titles and employees should be presented in full, without abbreviations;

e) List the full addresses of all the universities with which the authors have affiliations;

f) Indicate an address to exchange correspondence, including the manuscript, with the author, including facsimile, telephone and e-mail address.

Observation: this should be the only part of the text with identification of the authors.

Abstract: all articles submitted in Portuguese or Spanish should have an abstract in the original language and English, with at least 150 words and at most 250 words.

The articles submitted in English should contain the abstract in Portuguese or Spanish and in English.

For original articles, the abstracts must be structured highlighting objectives, basic methods adopted, information on the location, population and sample of the research, most relevant results and conclusions, considering the objectives of the work and indicating ways to continue the study.

For the remaining categories, the format of the abstract must be narrative but with the same information.

The text should not contain citations and abbreviations. Highlight at least three and at most six keywords using the descriptors of Health Science - DeCS - of Bireme <<http://decs.bvs.br>>.

Text: except for manuscripts presented as Review, Current comments, Previous Notes and Case Reports, the works should follow the formal structure for scientific works:

Introduction: must contain current literature review and pertinent to the theme, adequate to the presentation of the problem and that highlights its relevance. It should not be extensive unless it is a manuscript submitted as Review.

Methods: must contain a clear and brief description of the method employed along with the correspondent bibliography, including: adopted procedures, universe and sample; measurement instruments and if applicable, validation method; statistical treatment.

Inform that the research was approved by an Ethics Committee certified by the National Council of Health and inform the number of the procedure.

If experiments with animals are reported, indicate if the directives of the institutional or national research councils - or any law regarding the care and use of laboratory animals - were followed.

Statistical analysis: The authors must demonstrate that the statistical procedures employed were not only appropriate to test the hypotheses of the study but have also been correctly interpreted. Do not forget to mention the level of significance adopted (e.g. $p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$).

Results: whenever possible, the results should be presented in tables and figures and constructed in a way as to be self-explanatory and contain statistical analysis. Avoid repeating the data within the text.

Tables, charts and figures together should be limited to five and numbered consecutively and independently with Arabic characters according to the order in which data is mentioned and must come in individual and separate sheets. Their locations should be indicated in the text. **Information on the location and year of the study is absolutely necessary.**

Each element should have a brief title. Tables and charts must have open side borders.

The author is responsible for the quality of the figures (drawings, illustrations, tables, charts and graphs). It must be possible to reduce their size to one or two columns (7 and 15 cm respectively) without loss of sharpness. **Landscape format is absolutely forbidden.** Digital figures should have the jpeg extension and a minimum resolution of 300 dpi.

Figures should be sent in a high-quality print version in black-and-white and/or different tones of gray and/or hachure.

Graphs should be submitted separately in WMF (Windows Metafile) format file and in the format of the program in which they were generated (SPSS, Excel), accompanied by their quantitative parameters in table form and with the names of all the variables.

Printing of colored images when this printing is possible is paid by the authors. If the authors are interested, the Journal of Medical Sciences will inform them of the costs which will vary according to the number of images, their distribution in different pages and the concomitant publication of colored material by other authors.

Once the costs are presented to the authors, these are asked to deposit the amount in a bank account. The information regarding the account will be disclosed when necessary.

Discussion: should explore adequately and objectively the results and discuss them in light of other observations already registered in the literature.

Conclusion: present the relevant conclusions taking into account the objectives of the work and indicate ways that the study can be continued. **Bibliographical citations in this section are absolutely forbidden.**

Acknowledgements: acknowledgments are accepted in a paragraph with no more than three lines and may contain the names of institutions or individuals who actually collaborated with the research.

Attachments: include attachments only when they are absolutely essential for the understanding of the text. The editors will determine if their publication is necessary.

Abbreviations: these must be used in the standard manner and restricted to the usual or sanctioned ones. They should be followed by their full meaning when first cited in a text. They should not be used in the title and abstract.

References according to the Vancouver Style

References: must be numbered consecutively according to the order in which they were first mentioned in the text, according to the Vancouver Style.

In references with two or up to the limit of six authors, all authors are cited; references with more than six authors, the first six should be mentioned and the remaining referred to as *et al.*

The abbreviations of the titles of mentioned journals should be in agreement with the Index Medicus.

Citations/references of **senior research papers, works of congresses, symposiums, workshops, meetings, among others and unpublished texts will** (examples, classes among others) **not be accepted.**

If an unpublished work of one of the authors of the study is mentioned (that is, an article in press) it is necessary to include the letter of acceptance of the journal who accepted the article for publication.

If unpublished data obtained by other researchers are cited in the manuscript, it is necessary to include a letter authorizing the disclosure of the data by their authors.

Bibliographical citations in the text: they should be placed in numerical order, in Arabic characters, half a line above

and after the citation and must be included in the list of references. If there are only two authors, both are mentioned and separated by a "&"; if more than two, only the first one is mentioned followed by the expression "*et al.*".

The exactness and adequateness of the references to works that have been consulted and mentioned in the text of the article are of responsibility of the authors. All authors whose works are cited in the text should be listed in the "References" section.

Examples

Article with one author

Guimarães CA. Revisão sistemática da pesquisa em animais. *Acta Cir Bras.* 2009; 24(1):67-8.

Article with more than six authors

Miasso AI, Oliveira RC, Silva AEBC, Lyra Junior DP, Gimenes FRE, Fakh FT, *et al.* Erros de prescrição em hospitais brasileiros: um estudo exploratório multicêntrico. *Cad Saúde Pública.* 2009; 25(2):313-20.

Electronic article

Elias N, Tarasoutchi F, Spina GS, Sampaio RO, Pomerantzeff PMA, Laurindo FR, *et al.* Fibrose miocárdica e remodelamento ventricular na insuficiência aórtica crônica importante. *Arq Bras Cardiol* [periódico na Internet]. 2009 [citado 2009 mar 4]; 92(1):63-7. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2009000100010&lng=pt&nrm=iso>. doi:10.1590/S0066-782X2009000100010.

Book

Braunwald EK, Dennis L, Hauser SL, Fauci A, Longo DL, Jameson JL. *Harrison medicina interna.* 17a. ed. São Paulo: McGraw-Hill Interamericana; 2009. v.2.

Electronic book

Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H, editors. *Hematology 2009.* [monograph online]. Germany: Flying Publisher; 2009 [cited 2009 Mar 4]. Available from: <<http://www.hepatologytextbook.com/hepatology2009.pdf>>.

Book chapters

Fernandes JL, Viana SL. Avaliação por imagem das doenças reumáticas. In: Moreira C, Pinheiro GRC, Marques Neto JF. *Reumatologia essencial.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009. cap. 6.

Electronic book chapters

Hepatitis E: epidemiology, transmission and natural history. In: Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H, editors. *Hematology 2009.* [monograph online]. Germany: Flying Publisher; 2009 [cited 2009 Mar 4]. Available from: <<http://www.hepatologytextbook.com/hepatology2009.pdf>>.

Dissertations and theses

Viegas K. Prevalência de diabetes mellitus na população de idosos de porto alegre e suas características sociodemográficas e de saúde [tese]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2009.

Electronic text

Ministério da Saúde. Saúde como estilo de vida: atitudes simples e hábitos saudáveis previnem doenças e trazem qualidade de vida. Brasília, 2009 [acesso 2009 mar 4]. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalhes&id_area=124&CO_NOTICIA=2059>.

Computer software

Statistical Package for the Social Sciences. SPSS statistics base, version 17.0. Chicago; 2008.

Consultation of the rules of the Committee of Medical Journals Editors (Grupo Vancouver) is recommended for other examples (<http://www.icmje.org>).

CHECKLIST

- Declaration of responsibility and transfer of copyright signed by each author.
- Send four copies of the original to the Editor (one original and three copies) and a floppy disc or CD-ROM labeled with the following information: name of the authors and name of the file. If it is a second or more version, include the number of the protocol.
- Verify if the text, including abstract, tables and references, is written with Arial font size 11 and double spaced. The upper and lower margins should have at least 2.5 cm and the lateral margins should have at least 3 cm.
- Verify if the information of the legends of the figures and tables is complete.
- Prepare a cover page with the requested information.
- Include the name of the sponsors and the number of the proceeding.
- Indicate if the article is based on a thesis/dissertation placing the title, name of the institution, year of defense and number of pages.
- Include the title of the manuscript in Portuguese and in English.
- Include a short title with 40 characters at most for the legend of each page.
- Include structured abstracts for works and narratives for manuscripts that do not regard research with up to 150 words,

in Portuguese or Spanish and English, and keywords when applicable.

- Verify if the references are listed according to the Vancouver Style, ordered in the way they were first mentioned in the text and if they are all cited in the text.
- Include permission of the editors for tables and figures that have been published before.
- Include the opinion of the Ethics Committee of the Institution.

DECLARATION OF RESPONSIBILITY AND COPYRIGHT TRANSFER

Each author must read and sign the documents (1) Declaration of Responsibility and (2) Copyright Transfer.

First author:

Author responsible for the negotiations: Title of the manuscript:

1. Declaration of responsibility: all the persons mentioned as authors must sign the declarations of responsibility in the terms mentioned below:

- I certify that I have participated in the creation of this work and render public my responsibility for its content; I have not omitted any affiliations or financial agreements between the authors and companies that may be interested in the publication of this article;

- I certify that the manuscript is original and the work, in part or in full, or any other work with a substantially similar content of my authorship was not sent to another journal and will not be sent to another journal while its publication is being considered by the Journal of Medical Sciences, whether in the printed or electronic format.

Signature of the author(s) Date ____ / ____ / ____

2. Copyright transfer: "I declare that, if this article is accepted, the Journal of Medical Sciences will have its copyright and exclusive ownership and any reproduction, in part or in full, printed or electronic, is forbidden without the previous and necessary consent of this journal. If the consent is granted, I will include my thanks for this journal."

Signature of the author(s) Date ____ / ____ / ____

All correspondence should be sent to Journal of Medical Sciences at the address below

Núcleo de Editoração SBI/CCV - Campus II
 Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP, Brasil.
 Fone/Fax: +55-19-3343-6875
 E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br
 Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/centros/ccv>

Revista de Ciências Médicas

Journal of Medical Sciences

Capa impressa em papel supremo 250g/m² e miolo no papel couchê fosco 90g/m²

Capa/Cover

Katia Harumi Terasaka

Editoração/Composition

Beccari Propaganda e Marketing

Impressão/Printing

Silvamarts Gráfica Editora Ltda

Tiragem/Edition

1000

Distribuição/Distribution

Sistema de Bibliotecas e Informação da PUC-Campinas.
Serviço de Publicação, Divulgação e Intercâmbio

ARTIGOS ORIGINAIS

Doença periodontal e diabetes *mellitus*: uma via de mão dupla

Epilepsia e depressão: aspectos sociodemográficos e clínicos associados

Comportamento de ratos imobilizados na posição de 90° do tornozelo e submetidos à estimulação elétrica muscular

REVISÃO

Homocisteína e risco cardiovascular

Doença hepática gordurosa não alcoólica: patogênese e achados histológicos com ênfase nas alterações mitocondriais

RELATO DE CASO

Hiperplasia epitelial papilomatosa em crianças

Doença de Huntington: aspectos diagnósticos e implicações éticas

ORIGINAL ARTICLES

Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way road

Sociodemographic and clinical factors associated with depression in epilepsy

Behavior of rats with ankle immobilized at 90° submitted to electric muscle stimulation

REVIEW

Homocysteine and cardiovascular risk

Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and histological findings, with emphasis on mitochondrial alterations

CASE REPORT

Focal epithelial hyperplasia in infants

Huntington's disease: diagnostic aspects and ethical implications