

Health
and
Biosciences

*Volume 5, Número 3
Dezembro de 2024*



Health and Biosciences

Dezembro de 2024

Volume 5, Número 3

Editor-Chefe

Marco Antônio Andrade de Souza (UFES, São Mateus, ES, Brasil)

Editores Associados

Adriana Nunes Moraes Partelli (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Ana Paula Costa Velten (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Anelise Andrade de Souza (UFOP, Ouro Preto, MG, Brasil)
Débora Barreto Teresa Gradella (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Diego Guimarães Florêncio Pujoni (UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil)
Elisa Mitsuko Aoyama (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Fabiana Vieira Lima (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Flávia Dayrell França (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Gracielle Ferreira Andrade (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Hudson Alves Pinto (UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil)
Karina Carvalho Mancini (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Marcelo Antônio Oliveira (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Marco Antônio Andrade de Souza (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Paola Rocha Gonçalves (UFES, São Mateus, ES, Brasil)
Ricardo Andrade Barata (UFVJM, Diamantina, MG, Brasil)
Sandro Eugênio Pereira Gazzinelli (COLÉGIO MILITAR, Belo Horizonte, MG, Brasil)
Valquíria Camin de Bortoli (UFES, São Mateus, ES, Brasil)

Universidade Federal do Espírito Santo

Reitor: Eustaquio Vinicius Ribeiro de Castro

Vice-Reitor: Sonia Lopes Victor

Centro Universitário Norte do Espírito Santo

Diretor: Luiz Antônio Fávero Filho

Vice-Diretora: Vivian Estevan Cornélio

Departamento de Ciências da Saúde

Chefe: Andréia Soprani dos Santos

Subchefe: Valquíria Camin de Bortoli

Projeto Gráfico e Diagramação

Marco Antônio Andrade de Souza

Capa

Pixabay Licence

Acesso na internet

<https://periodicos.ufes.br/healthandbiosciences>

Endereço para correspondência

Centro Universitário Norte do Espírito Santo
Rodovia Governador Mário Covas, Km 60, s/n
Bairro Litorâneo, CEP 29.932-540
São Mateus, ES, Brasil
Fone: (27) 3312-1544
E-mail: healthandbiosciences@ufes.br

Health and Biosciences - HB

Departamento de Ciências da Saúde, Centro Universitário Norte do Espírito Santo,
v.5, n.3 (Dezembro, 2024). São Mateus: DCS/CEUNES (2024)

Quadrimestral - ISSN 2675-276X (online)

1. Ciências Farmacêuticas. 2. Ciências Biológicas. 3. Ciências da Saúde. 4. Ensino.

SUMÁRIO

Editorial.....	4
<i>Hanseníase: Aspectos Imunológicos e Métodos Diagnósticos - uma revisão Prado & França.....</i>	5
<i>Estabilidade de fármacos e medicamentos: uma análise histórica das estratégias para a determinação do prazo de validade Silva et al.....</i>	25
<i>Identificação de fatores de risco para o desenvolvimento de síndrome metabólica em estudantes de Instituição de Ensino Superior do Espírito Santo Souza et al.....</i>	53

Editorial

Bem-vindos ao terceiro número do volume cinco da Health and Biosciences, no ano de 2024!!!

Neste número apresentamos manuscritos sobre “Estabilidade de fármacos e medicamentos: uma análise histórica das estratégias para a determinação do prazo de validade”, “Identificação de fatores de risco para o desenvolvimento de síndrome metabólica em estudantes de Instituição de Ensino Superior do Espírito Santo” e uma revisão sobre “*Hanseníase: Aspectos Imunológicos e Métodos Diagnósticos*”.

Completamos 5 anos de trajetória e somos gratos por todo apoio nos dado por vocês, leitores e autores!

Seguiremos em busca de valorizar os trabalhos desenvolvidos por estudantes de graduação, pós-graduação, professores e pesquisadores.

Esperamos por vocês em 2025!

Até breve!!!

Um fraterno abraço,

Marco Antônio Andrade de Souza

Hanseníase: Aspectos Imunológicos e Métodos Diagnósticos - uma revisão

Leprosy: Immunological Aspects and Diagnostic Methods - a review

Carla Belo do Prado¹, Flávia Dayrell França¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Flávia Dayrell França

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde
Rodovia Governador Mário Covas Km 60, s/n, Litorâneo, CEP 29.932-540
São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Tel: +55 27 3312-1531

Email: flavia.d.franca@ufes.br

Submetido em 06/11/2024

Aceito em 11/12/2024

DOI: <https://doi.org/10.47456/hb.v5i3.46657>

RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa, transmissível, crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*. Aspectos genéticos, imunológicos e ambientais determinam a suscetibilidade individual ao bacilo e explicam a progressão e/ou regressão da doença. O objetivo do trabalho foi avaliar e compreender os aspectos imunológicos da hanseníase e como eles podem influenciar no diagnóstico. Foram selecionados 6 artigos referentes às características imunológicas da hanseníase e 4 artigos relacionados aos métodos diagnósticos. Os resultados demonstram que a expressão aumentada do receptor “Toll Like 4” em neutrófilos é um biomarcador universal. A suscetibilidade a polos da hanseníase foi demonstrada pelo polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) na região promotora do *DC-SIGN CD209*, Gene *IL-17A* e do Receptor de vitamina D (VDR) nas regiões FokI, TaqI e ApaI. Houve aumento na expressão do fator de transcrição FOXP3 em pacientes multibacilares e durante as reações tipo 1. Quanto ao diagnóstico por detecção de anticorpos, o conjugado NDO-LID apresentou maior sensibilidade que NDO-BSA e LID-1 separadamente. Já o teste rápido ML-Flow teve alto nível de positividade, mas a maioria dos paucibacilares não desenvolvem anticorpos detectáveis, não sendo diagnosticados por esse método. Quanto à investigação do DNA do *M. leprae*, o ISSR-PCR demonstrou ser um método mais eficaz que RLEP-PCR e baciloscopia. Assim, pode-se concluir que o sistema imunológico está intimamente relacionado com o desenvolvimento da hanseníase. A análise dos métodos deixa claro que o uso de antígenos para detecção de anticorpos e a análise do DNA do *M. leprae* são eficazes e rápidos, quando comparados com a baciloscopia.

Palavras-chave: hanseníase; *Mycobacterium leprae*; imunologia; diagnóstico.

ABSTRACT

Leprosy is an infectious, transmissible, chronic disease caused by *Mycobacterium leprae*. Genetic, immunological and environmental aspects determine individual susceptibility to the bacillus and explain the progression and/or regression of the disease. The objective of this study was to evaluate and understand the immunological aspects of leprosy and how they can influence the diagnosis. Six articles related to the immunological characteristics of leprosy and four articles related to diagnostic methods were selected. The results demonstrate that increased expression of the “Toll Like 4” receptor in neutrophils is a universal biomarker. Susceptibility to leprosy poles was demonstrated by single nucleotide polymorphism (SNP) in the promoter region of *DC-SIGN CD209*, *IL-17A* gene and vitamin D receptor (VDR) in the FokI, TaqI and ApaI regions. There was an increase in the expression of the transcription factor FOXP3 in multibacillary patients and during type 1 reactions. Regarding the diagnosis by antibody detection, the NDO-LID conjugate showed greater sensitivity than NDO-BSA and LID-1 separately. The ML-Flow rapid test had a high level of positivity, but most paucibacillary patients do not develop detectable antibodies and are not diagnosed by this method. Regarding the investigation of *M. leprae* DNA, ISSR-PCR proved to be a more effective method than RLEP-PCR and bacilloscopy. Thus, it can be concluded that the immune system is closely related to the development of leprosy. The analysis of the methods makes it clear that the use of antigens for antibody detection and the analysis of *M. leprae* DNA are effective and rapid when compared with bacilloscopy.

Keywords: leprosy; *Mycobacterium leprae*; immunology; diagnosis.

INTRODUÇÃO

Mycobacterium leprae é um bacilo álcool-ácido resistente e foi descrito em 1873 pelo norueguês Amauer Hansen. É parasita intracelular com predileção pela célula de Schwann e células da pele. Essa característica resulta em lesões cutâneas desfigurantes e lesões nervosas progressivas com subsequente fraqueza muscular, reabsorção óssea e tecidual, com desfiguração causando estigma e isolamento social. Os danos provocados ao nervo periférico podem ser permanentes e são responsáveis pela instalação das sequelas e incapacidades (ARAÚJO, 2003).

Para fins operacionais de tratamento, a organização mundial de saúde classifica os doentes em paucibacilares (PB – presença de até cinco lesões de pele com baciloscopia de raspado intradérmico negativo, quando disponível) ou multibacilares (MB – presença de seis ou mais lesões de pele ou baciloscopia de raspado intradérmico positiva). Entretanto, alguns pacientes podem apresentar apenas lesões nos nervos (hanseníase primariamente neural), podendo-se seguir a classificação de Madri (1953): hanseníase indeterminada (PB/HI), tuberculóide (PB/HT), virchowiana (MB/HV) e dimorfa (MB/HD) (BARRETO et al., 2017).

A Hanseníase indeterminada (HI) caracteriza-se pelo aparecimento de manchas hipocrômicas, com alteração de sensibilidade térmica e apresenta baciloscopia negativa. Na Hanseníase tuberculóide (HT), encontram-se lesões bem delimitadas, em número reduzido, anestésicas e de distribuição assimétrica, sendo sua baciloscopia também negativa. Já a Hanseníase virchowiana (HV), apresenta na pele pápulas, nódulos e máculas. A infiltração é difusa e mais acentuada na face e nos membros. Além disso, a HV é considerada um importante foco infeccioso ou reservatório da doença e apresenta baciloscopia fortemente positiva. Por fim, a Hanseníase dimorfa (HD) apresenta numerosas lesões da pele, sendo que a infiltração assimétrica da face, dos pavilhões auriculares, e a presença de lesões no pescoço e nuca são elementos sugestivos desta forma clínica (HASTINGS, 1994).

Apesar de ser pouco compreendido, acredita-se que as vias aéreas sejam a principal porta de entrada e via de eliminação do *M. leprae* (VAN BEERS et al., 1996). Sua transmissão depende da quantidade de bacilos infectando a pessoa portadora, além da proximidade e frequência de contato com o indivíduo infectado. O momento da contaminação, conhecido como “toque do bacilo” é de difícil determinação, já que a doença é lenta e tortuosa e ainda deve-se levar em consideração que o bacilo pode sobreviver por até 14 dias no ambiente externo ao corpo do hospedeiro (KUNDAKCI; ERDEN, 2019).

Health and Biosciences, v.5, n.5, dez. 2024

Disponível em: <https://periodicos.ufes.br/healthandbiosciences>

A doença atinge pessoas de ambos os sexos e de todas as faixas etárias, podendo apresentar evolução lenta e progressiva e geralmente apresenta longo período de incubação, variando em média de 3 a 5 anos (BARRETO et al., 2017). Depois da entrada do *M. leprae* no organismo, não ocorrendo a sua destruição, este irá se localizar na célula de Schwann e na pele. Sua disseminação para outros tecidos pode ocorrer nas formas mais graves da doença, nas quais o agente infectante não encontra resistência contra a sua multiplicação (HASTINGS, 1994).

A fisiopatologia da hanseníase é multifatorial, sendo que aspectos genéticos, imunológicos e ambientais determinam a suscetibilidade individual ao bacilo (WHO, 2019). As reações hansênicas são complicações que ocorrem como resultado de uma resposta imunológica do organismo à presença do *M. leprae*. Essas reações podem ocorrer tanto em pacientes em tratamento quanto em pacientes já considerados curados, e podem manifestar-se de forma aguda ou crônica (QUEIROZ et al., 2015).

A resposta imune é de fundamental importância para a defesa do organismo frente à exposição ao bacilo. Essa resposta pode ser dividida esquematicamente em inata e adaptativa. Uma resposta imune inata, efetiva, em combinação com a baixa virulência do *M. leprae*, está associada à resistência para o desenvolvimento da hanseníase. A imunidade inata caracteriza-se pela rápida resposta à agressão, independentemente de estímulo prévio, sendo a primeira linha de defesa do organismo. Seus mecanismos compreendem barreiras físicas, químicas e biológicas, componentes celulares e moléculas solúveis (CRUVINEL et al., 2010).

A resposta imune adaptativa caracteriza-se por apresentar mecanismos que se baseiam no reconhecimento específico de antígenos, mediado por receptores presentes nas membranas dos linfócitos T e B. Classicamente a resposta imune adaptativa pode ser categorizada em celular ou do tipo 1, e humoral ou do tipo 2 (MENDONÇA et al., 2008).

As principais reações hansênicas são: reação Tipo 1 ou reversa (RR), com ou sem neurite, estando associada à resposta imune celular (do tipo Th1); e a reação Tipo 2 que está relacionada à ausência de resposta Th1 e relativa expressão Th2 (imunidade humoral), cuja manifestação clínica mais frequente é o eritema nodoso hansênico (ENH), com ou sem neurite. Considera-se ainda, um terceiro tipo de reação, denominada neurite isolada que pode ocorrer tanto em pacientes classificados como paucibacilar (PB) ou multibacilar (MB) (CORIOLANO et al., 2021).

O equilíbrio das respostas Th1/Th2 por si só não pode explicar completamente a resposta na hanseníase. Outros subconjuntos de células T, tais como células T reguladoras e

Th17, foram identificados como tendo papéis importantes na determinação da imunidade do hospedeiro (FONSECA et al., 2017).

O diagnóstico da hanseníase na prática atual é baseado na presença de pelo menos um dos três sinais cardinais: (i) perda definitiva de sensibilidade em uma área de pele esbranquiçada (hipopigmentada) ou avermelhada; (ii) nervo periférico espessado ou aumentado com perda de sensibilidade e / ou fraqueza dos músculos supridos por esse nervo; ou (iii) presença de bacilos álcool-ácido resistentes em esfregaço de raspado intradérmico. Entretanto, os esfregaços de raspado intradérmico são positivos apenas na hanseníase MB, já os primeiros estágios clínicos da hanseníase e formas menos severas de hanseníase (PB) são de diagnóstico mais desafiador (GROSSET et al., 2019). Também pode ser realizado o exame histopatológico da pele nos casos em que há dúvidas diagnósticas ou na classificação, e indica-se a biópsia do nervo em casos especiais, quando há dúvida no diagnóstico diferencial com outras neuropatias (ARAÚJO, 2003).

Apesar do diagnóstico da hanseníase ser majoritariamente realizado por identificação de aspectos clínicos e baciloscopia, é importante analisar quais são os aspectos imunológicos da doença e como eles podem ajudar no diagnóstico de pacientes hansenícos, além da classificação em que se encaixam.

MATERIAIS E MÉTODOS

O método utilizado para este estudo é a revisão bibliográfica narrativa. Para direcionar o presente trabalho buscou-se responder a seguinte pergunta norteadora: “Quais são os aspectos imunológicos da Hanseníase e como eles podem influenciar no diagnóstico da doença?”

Para isso, os artigos foram selecionados através das plataformas de pesquisa acadêmica online Google Acadêmico, *Scientific Electronic Library Online (Scielo)* e base de dados “Portal Regional da Biblioteca Virtual em Saúde” (BVS) em português e em inglês. Dentre os critérios de inclusão, foram selecionados artigos compreendidos entre o período de 2018 e 2024. Foram incluídos na revisão artigos completos que abordam pesquisa experimental e comparativa de aspectos imunológicos e diagnósticos da hanseníase, utilizando-se os seguintes descritores com os operadores booleanos: (Hanseníase) AND (*Mycobacterium leprae*), (Hanseníase) AND (Imunologia) AND (Diagnóstico) considerando-se os artigos em português. (Le prosy) AND (*Mycobacterium leprae*), (Leprosy) AND (Immunology) AND (Diagnosis) em inglês. Os critérios para exclusão dos artigos foram a falta de relação com os objetivos da pesquisa, com

Health and Biosciences, v.5, n.3, dez. 2024

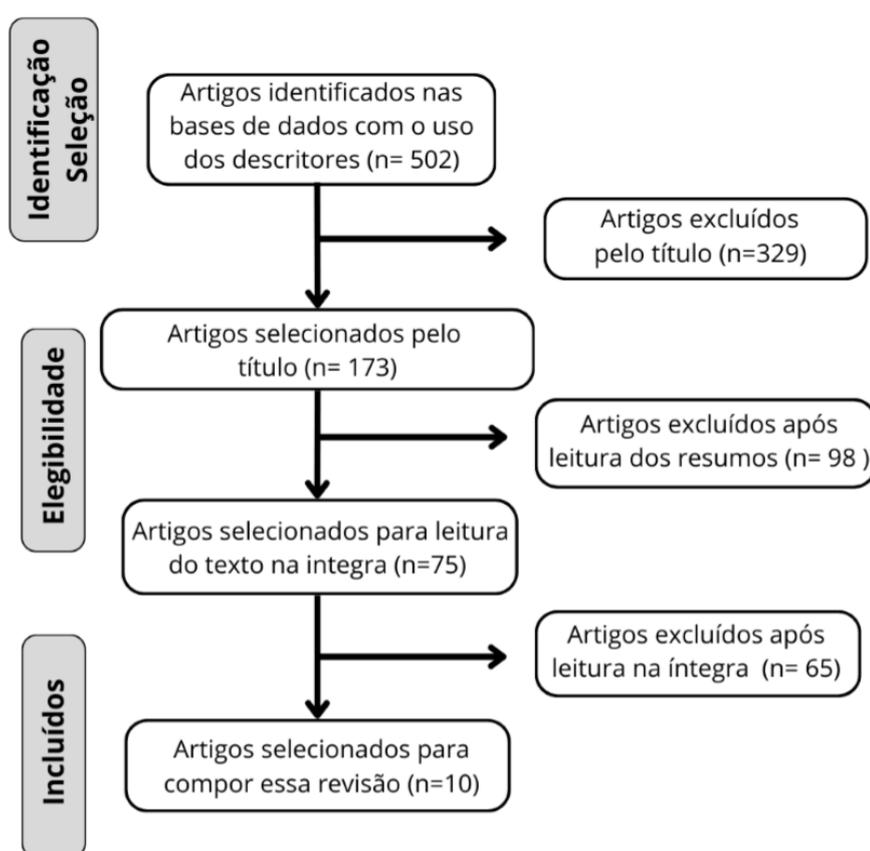
Disponível em: <https://periodicos.ufes.br/healthandbiosciences>

base na leitura dos títulos e resumos, artigos publicados antes de 2018 e materiais não disponíveis na íntegra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentro do período delimitado para a realização do levantamento bibliográfico foram encontrados 502 artigos nas bases de dados utilizando os descritores Hanseníase; *Mycobacterium leprae*; Imunologia e Diagnóstico. A seleção pode ser observada na figura 1.

Figura 1. fluxograma de levantamento bibliográfico.



Fonte: Elaborada pela própria autora, 2024.

Dos 10 artigos selecionados nas bases de dados, 6 abordam os aspectos imunológicos da hanseníase e 4 se referem aos métodos diagnósticos (Quadro 1).

Quadro 1. Artigos selecionados nas bases de dados para compor a revisão.

Títulos/ Autores/Ano	Objetivo geral	Principais resultados
Características fenotípicas e funcionais da imunidade inata e adaptativa como possíveis biomarcadores para estado clínico e reações hansênicas. CARVALHO et al., 2018	Identificar biomarcadores fenotípicos e funcionais associados a estados clínicos distintos de hanseníase ou reações hansênicas.	<ul style="list-style-type: none"> - <i>In vitro</i>: Aumento de TLR4 em neutrófilos (NEU TLR4+) são biomarcadores universais da hanseníase; Expressão aumentada TLR2+ e HLA-DR+ em monócitos (MONTLR2 e MONHLA-DR+), TLR2+ em células CD4+ (CD4+TLR2+) e CD8+ são Biomarcadores seletivos da reação hansênica - <i>Ex-vivo</i>: Pacientes com hanseníase apresentam níveis diminuídos de MON TGF-β+. - <i>In vitro e ex-vivo</i>: Aumento de CD8+IL10+ é considerado biomarcador específico do polo virchowiano; Níveis aumentados de CD8+IL-8 e MON IL-10+ são biomarcadores exclusivos das reações do Tipo 2.
A transcriptômica do sangue total revela o enriquecimento das vias de ativação de neutrófilos durante a reação do eritema nodoso hansênico ROSA et al., 2024	Identificar o papel desempenhando pelos neutrófilos na patogênese do eritema nodoso hansênico - ENH	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento de CD177 no ENH em comparação com o pólo virchowiano (HV); - Níveis séricos de CD177 mais elevados em pacientes com episódios moderados; - Aumento do número de pacientes com ENH expressando os genes <i>CHIT1</i> e <i>S100A</i>; - Expressão de <i>S100A8</i> pode discriminar ENH de HV.
Associação do polimorfismo do gene do receptor de vitamina D (VDR) com o risco de hanseníase na Amazônia brasileira PAZ et al., 2021	Avaliar a associação do polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) nas regiões FokI, TaqI e ApaI do gene receptor de vitamina D (VDR) com o risco de desenvolver a hanseníase.	<ul style="list-style-type: none"> - Os principais SNPs do gene VDR estão nas regiões FokI, TaqI e ApaI; - O SNP FokI e seus genótipos não tiveram associação com a hanseníase; - Manifestação MB: genótipo tt da TaqI e genótipo AA da ApaI; - Proteção da MB: genótipo Aa da ApaI e os genótipos estendidos AaTT e AaTt de ApaI e TaqI.
Associação do SNV CD209 (DC-SIGN) rs735240 com a hanseníase paucibacilar na população brasileira e seus efeitos funcionais GERMANO et al., 2022	Avaliar a associação de polimorfismos na região promotora do gene que codifica DC-SIGN (CD209) e a forma clínica da hanseníase	<ul style="list-style-type: none"> - Hanseníase paucibacilar (PB): Pacientes apresentaram genótipo GA heterozigoto do SNV rs735240; - Portadores do alelo A apresentaram menor expressão de DC-SIGN e níveis mais baixos de TGF-β1.
Interleucina-17A em pacientes egípcios com hanseníase: estudo clínico, genético e bioquímico FARAG et al., 2022	Investigar o polimorfismo do gene <i>IL-17A</i> (rs2275913) em pacientes com hanseníase, e correlacionar com diferentes aspectos clínicos da doença.	<ul style="list-style-type: none"> - Hanseníase virchowiana (MB): Pacientes apresentaram genótipo GG e o alelo G da <i>IL-17A</i>; - Hanseníase tuberculóide (PB): Portadores desse polo apresentaram genótipo AG;

		- Portadores do genótipo AG demonstraram os níveis séricos de IL-17 mais elevados.
Expressão de FoxP3 em diferentes formas de hanseníase e reações hansênicas LIMA et al., 2019	Quantificar o fator de transcrição (FoxP3), principal marcador de células Treg, nas diferentes formas de hanseníase.	- Níveis mais altos de FOXP3 foram encontrados em pacientes multibacilares (MB) e com reação hansênica tipo 1 em comparação ao grupo controle e paucibacilares (PB).
Avaliação da detecção de anticorpos contra os antígenos NDO-BSA, LID-1 e NDO-LID como testes confirmatórios para apoiar o diagnóstico de lepra na província de Yunnan, sudoeste da China JIAN et al., 2019	Avaliar a capacidade dos antígenos NDO-BSA e LID-1 e do conjugado, de detectar anticorpos nos soros de 113 pacientes com hanseníase e 166 indivíduos controle na província de Yunnan.	- O conjugado combinado de NDO-LID obteve resultado melhor do que aquele administrado independentemente pelos outros dois antígenos, LID-1 e NDO-BSA em pacientes multibacilares e paucibacilares.
Infecção latente de hanseníase identificada por positividade dupla de RLEP e anti-PGL-I: implicações para novas estratégias de controle SILVA et al., 2021	Avaliar a detecção dos testes na análise de amostras de sangue e SSS do lóbulo da orelha para anti-PGL-I por ELISA e a presença de DNA do <i>M.lepra</i> por PCR.	- Detecção de DNA RLEP no esfregaço cutâneo de fenda no lóbulo da orelha (SSS) foi maior que a sorologia IgM anti-PGL-I, nos quesitos sensibilidade, especificidade e acurácia. - A combinação dos dois testes laboratoriais obteve um aumento da sensibilidade, especificidade e precisão.
Marcador dominante (reação em cadeia da polimerase repetida de sequência inter-simples) versus marcador codominante (RLEP-polimerase Reação em Cadeia) para Diagnóstico Laboratorial de Hanseníase: Uma avaliação comparativa MOHANTY et al., 2020	Avaliar a eficácia do marcador dominante inter-sequência simples repetida-PCR (ISSR-PCR) para a detecção de hanseníase	- ISSR-PCR obteve maior número de casos positivos para hanseníase; - ISSR-PCR apresentou maior sensibilidade em relação ao RLEP-PCR e à coloração de BAAR.
Diagnóstico Laboratorial de Hanseníase: Dois Métodos de Coloração de Baciloscopia e teste rápido de fluxo de ML BELOTTI et al., 2021	Comparar qual a melhor opção para coloração e avaliar qual é mais positivo entre as três técnicas.	- O teste de fluxo ML obteve mais resultados positivos entre as 3 técnicas; - A sorologia e a técnica de Ziehl-Neelsen obteve maior concordância em comparação com a sorologia e Auramine O.

Fonte: Elaborado pela própria autora, 2024.

Os resultados das pesquisas apontam distintos pontos de vista a respeito das características imunológicas da hanseníase. Cada estudo experimental destacou utilizou em suas pesquisas diferentes marcadores, genes, proteínas e citocinas, mas que em conjunto podem esclarecer como o sistema imunológico responde ao *M. leprae*.

Os autores Carvalho e colaboradores (2018) identificaram que a expressão aumentada do receptor “Toll like-4” (TLR4) por neutrófilos configura-se como biomarcador universal da hanseníase. Além disso, encontraram uma gama de biomarcadores seletivos da reação hansênica tipo 1, caracterizados pelo aumento dos níveis de MONTLR2+, MONHLA-DR+, CD4+ TLR2+ e CD8+ sobre estímulos *in vitro* com antígeno *M. leprae*, justificando que reações do Tipo 1 estão associadas à ativação da imunidade celular, causando inflamação localizada na pele e nos nervos. Os autores Mendonça e colaboradores (2008) concordam que as lesões da reação hansênica tipo 1 apresentam-se infiltradas por linfócitos CD4⁺, com aumento da expressão de HLA-DR e do receptor para IL-2 em células do infiltrado, assim como os queratinócitos. Já os pacientes com reação hansênica tipo 2 apresentaram dois biomarcadores exclusivos, incluindo aumento dos níveis de MONIL-10+ no *ex-vivo* e CD8+ IL-8+ por estimulação *in vitro* com antígeno *M. leprae*. Além disso, as descobertas demonstraram que níveis diminuídos de MON TGF-β+ em pacientes com hanseníase foram capazes de discriminá-los daqueles com reações hansênicas.

Rosa e colaboradores (2024) avaliaram as vias de ativação de neutrófilos durante a reação do eritema nodoso hansênico (ENH), também conhecida como reação hansênica tipo 2. Foi identificado que o marcador de ativação de neutrófilos CD177 foi o gene mais enriquecido no ENH, sugerindo que a gravidade do episódio reacional pode estar ligada ao grau de ativação dos neutrófilos. Os genes *CHIT1* (quitinase 1) e *S100A8* (Migration Inhibitory Factor-Related Protein 8) apresentaram níveis médios de expressão mais elevados em pacientes com ENH em comparação com os níveis em pacientes com hanseníase virchowiana (HV). Uma maior expressão do gene *S100A9* (Migration Inhibitory Factor-Related Protein 14) também foi observado em lesões cutâneas do eritema nodoso hansênico (ENH), reforçando seu papel como ator-chave na inflamação. *CHIT1* codifica a enzima quitotriosidase (ou quitinase 1), que está ligada aos grânulos de neutrófilos e associada a um perfil inflamatório intenso. Já *S100A8 / A9* extracelular interage com os receptores de reconhecimento TLR4 e Receptor para Produtos de Glicação Avançada (RAGE), promovendo a ativação e o recrutamento celular (PRUENSTER et al., 2016). Sendo assim, é possível observar uma relação com os achados de Carvalho e colaboradores (2018), que observaram o aumento de MONIL-10+ e CD8+ IL-8+ como biomarcadores exclusivos de reações hansênicas tipo 2 e também identificaram que na reação tipo 1 há aumento nos níveis de TLR2.

Outros autores (PAZ et al., 2021; GERMANO et al., 2022 e FARAG et al., 2022)

avaliaram polimorfismos de nucleotídeo único (SNP). O Polimorfismo de Nucleotídeo Único, mais conhecido pela sigla SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), é uma variação genética que ocorre quando uma única base de nucleotídeo em uma sequência de DNA é substituída por outra base. A base nitrogenada é a unidade variável dos nucleotídeos, havendo quatro bases nitrogenadas possíveis na composição dos nucleotídeos de DNA: adenina (A), timina (T), guanina (G) e citosina (C) (BECKER & BARBOSA, 2018). Variações nas sequências de DNA podem ter um grande impacto sobre a forma como os seres humanos respondem a doenças, bactérias, vírus, toxinas, produtos químicos, drogas e outras terapias. Entretanto, a maioria dos SNPs não é responsável pelo estado de uma doença, em vez disso, eles servem como marcadores biológicos para a identificação de uma doença sobre o mapa do genoma humano (FREITAS & OLIVEIRA, 2009).

Paz et al. (2021) avaliaram a associação de SNPs nas regiões FokI (rs2228570), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232) do receptor de vitamina D (*VDR*) de pacientes com hanseníase. Os estudos mostraram que o SNP FokI e seus genótipos não tiveram associação com a hanseníase. Quanto ao SNP da região TaqI o genótipo TT foi o mais prevalente (56,9%) quando comparado com o genótipo tt (7,8%), sendo esse último associado a manifestação da hanseníase MB. Na região ApaI foi observado alta prevalência do genótipo Aa (47,03%), seguido pelo genótipo aa (19,55%). A presença do genótipo AA foi associada aos pacientes MB, enquanto o genótipo Aa foi significativamente maior entre os pacientes PB. A análise de risco revelou que o genótipo Aa esteve associado a menor chance de manifestação MB de hanseníase.

Os pesquisadores Singh et al. (2018) também avaliaram os SNPs do gene *VDR* (Taq1, Fok1 e Apa1) na população indiana. Foi observada a associação de Taq1 e Fok1 com pacientes com hanseníase, sendo que os genótipos tt e ff são significativamente mais prevalentes em pacientes com hanseníase em comparação com o grupo controle. Tais resultados contrastam com Paz et al. (2021), que mostraram que o SNP FokI e seus genótipos não tiveram associação com a hanseníase. Embora o poder de associação seja uma limitação do estudo, as observações sugerem que os genótipos ff de Fok1 e tt de Taq1 podem estar associados à suscetibilidade à hanseníase. Não foi encontrada associação significativa do genótipo Apa1 do gene *VDR* com hanseníase, o que também diverge de Paz et al. (2021). Por fim, foi destacado que receptores *VDR* estão distribuídos em menores quantidades em pacientes com hanseníase.

Germano et al. (2022) analisaram polimorfismos na região promotora do DC-SIGN CD209, que é um receptor de lectina do tipo C expresso na superfície das células dendríticas

(DC). Quando esse receptor se liga à micobactérias, prejudica a maturação das DC e promove a persistência do patógeno. Foi avaliado os efeitos funcionais do SNP rs735240 na resposta imune contra *M. leprae*. O genótipo GA e a presença do alelo A de rs735240 foram associados à hanseníase PB. Portadores do alelo A apresentaram menor expressão do receptor DC-SIGN tanto em lesões cutâneas de hanseníase quanto em DCs derivadas de monócitos. Por consequência dessa menor expressão de DC-SIGN houve também uma redução dos níveis de TGF- β . Dessa forma, a menor expressão de DC-SIGN em portadores do alelo A apresenta característica benéfica ao paciente, tendo em vista que os níveis mais baixos de expressão podem implicar uma baixa produção de interleucina-10 (IL-10), concordando com o desenvolvimento de uma resposta imune mediada por células eficiente, observada em pacientes com hanseníase PB. A IL-10 é uma citocina com ação anti-inflamatória, agindo tanto na inibição de apresentação de antígenos por células dendríticas quanto na inibição da ativação e infiltração de macrófagos no local da lesão (STEEN et al., 2020). Segundo Junior et al. (2010) a IL-10 e TGF- β inibem a ativação e maturação de células dendríticas, reduzindo sua capacidade de apresentar antígenos e, conseqüentemente, modulando a resposta imune. Portanto, sem a inibição realizada por IL-10 e TGF- β as células dendríticas podem atuar de forma eficiente no combate ao *M. leprae*.

O autor Cavalcanti (2023) também avaliou o papel de DC-SIGN, porém na Tuberculose e Covid-19. Na primeira, o receptor demonstrou fazer parte do esquema de escape imunológico da bactéria, de forma a estimular a síntese da citocina anti-inflamatória, IL-10. Na segunda patologia citada, ao conseguir se ligar com epítomos glicosilados do SARS-Cov-2, promove a transinfecção do vírus para suas células alvo, facilitando a propagação do vírus.

Outro grupo de pesquisadores avaliou SNP de *IL-17A* (rs2275913A/G). O genótipo GG da *IL-17A* (rs2275913A/G) e o alelo G foram associados significativamente com a hanseníase virchowiana (HV) MB, enquanto o genótipo AG foi significativamente associado com casos de Hanseníase tuberculóide (HT) PB. Os autores revelaram que as concentrações de *IL-17A* estavam mais elevadas em pacientes HT do que em HV e controles. Além disso, demonstraram mais células CD4+ *IL-17A*+ em lesões cutâneas de pacientes HT do que em pacientes HV (FARAG et al., 2022).

As citocinas *IL-17* são produzidas pelas células Th17. Essas células são potentes indutoras de inflamação tecidual e requerem TGF- β em combinação com outras citocinas, como *IL-6* e *IL-23* para sua diferenciação (ZAMBRANO et al., 2014). Esses dados demonstram uma

forte discordância com os resultados obtidos por Germano e colaboradores (2022), quando comparados. Isso porque foi observado no estudo anterior que portadores do alelo A s735240 possuem menor expressão de DC-SIGN e por consequência redução dos níveis de TGF- β . Os portadores do alelo A são associados à hanseníase PB. Dessa forma, pacientes paucibacilares deveriam apresentar concentrações de IL-17A mais baixas, justificada pela redução de TGF- β nesse pólo da doença. Os autores Aarão e colaboradores (2016) também analisaram a expressão tecidual de IL-17 na hanseníase. As biópsias de pele foram coletadas e submetidas à imunohistoquímica utilizando anticorpos específicos para IL-17, fator de crescimento nervoso (NGF) e seu receptor (NGF R). A análise quantitativa da imunomarcagem mostrou diferença significativa entre as formas clínicas, com maior expressão de NGF e NGFR na hanseníase virchowiana (HV) e aumento de IL-17 na hanseníase tuberculóide (HT), concordando com Farag e colaboradores (2022).

A expressão de FOXP3 foi estudada por Lima et al. (2019). O FOXP3 é um membro da família de fatores de transcrição fork head. São proteínas que têm a função de regular a transcrição gênica e, conseqüentemente, a expressão de moléculas e proteínas. Ao contrário de outros membros da família, o FOXP3 é expresso principalmente em um subconjunto de células T reguladoras (Treg CD4+) que desempenham um papel supressor no sistema imunológico (KIM, 2009). Os resultados do estudo demonstraram um número maior de células FOXP3 em pacientes MB do que em pacientes PB. As células FOXP3 teriam então um papel patogênico crucial nos indivíduos MB, já que a elevação dessas células poderia aumentar a supressão da resposta Th1, reduzindo a liberação de interferon gama (IFN- γ) e outras citocinas Th1, favorecendo a sobrevivência e a proliferação dos bacilos. Outro achado importante foi o aumento de FOXP3 durante reação hansênica tipo 1 (RT1) e sua menor expressão em reação hansênica tipo 2 (RT2). Isso sugere uma possível Treg supressiva para controlar a imunidade mediada por célula exacerbada em RT1. Essa supressão é benéfica pois o aumento de Tregs durante RT1 regula o processo inflamatório agudo exacerbado, evitando lesões graves e incapacitantes. Saini e colaboradores (2016) também estudaram a expressão de FOXP3. Assim como no estudo de Lima et al. (2019), as Tregs estavam aumentadas no pólo virchowiano (HV), indivíduos MB, em comparação com pacientes PB. No entanto, os pacientes RT1 e RT2 apresentaram uma diminuição nas células Treg em comparação com a doença não reativa.

Em relação aos métodos de diagnóstico da Hanseníase, há uma grande variação. Atualmente, a baciloscopia de raspado por coloração de Ziehl-Neelsen ainda é muito utilizada

para detecção da doença. Entretanto, a cada dia, métodos inovadores têm encontrado espaço nas análises, principalmente por sua alta sensibilidade e especificidade. A seguir, estão relatados os métodos de diagnóstico selecionados na pesquisa bibliográfica.

Jian et al. (2019) avaliaram a capacidade dos antígenos NDO-BSA (mimético sintético do PGL-I), LID-1 e de seu conjugado (NDO-LID), de detectar anticorpos nos soros de pacientes com hanseníase e grupo controle. O glicolípido fenólico (PGL)-I é um componente de membrana específico para *M. leprae*. O dissacarídeo-octil natural (NDO) é um mimético sintético do PGL-I que, quando conjugado com albumina sérica bovina ou humana (BSA e HSA, respectivamente), é passível de métodos de diagnóstico convencionais, como ensaio imuno enzimático (ELISA). LID-1 é uma proteína de fusão única (*Leprosy IDRI Diagnostic*), que foi construída mantendo as características de dois antígenos (ML0405 e ML2331) para detecção de anticorpos IgG na hanseníase (BOVOLINI et al., 2019). LID-1 também pode ser usada como proteína transportadora para NDO. Os anticorpos circulantes contra NDO-BSA, LID-1 e NDO-LID foram quantificados por ELISA.

O conjugado combinado de NDO-LID obteve resultado melhor do que aquele administrado independentemente pelos outros dois antígenos, LID-1 e NDO-BSA, em pacientes multibacilares e paucibacilares, sendo que os casos de hanseníase MB apresentaram níveis mais elevados de anticorpos circulantes específicos do antígeno quando comparados com todos os outros grupos. Foram detectadas respostas positivas em 97,3%, 97,3% e 98,6% dos pacientes MB para anticorpos contra NDO-BSA, LID-1 e NDO-LID, respectivamente. Essas taxas diminuíram para pacientes PB, para os quais 69,2%, 56,4% e 74,4% tinham anticorpos contra NDO-BSA, LID-1 e NDO-LID, respectivamente. Além desses achados, também foi identificado que o conjugado NDO-LID produziu sensibilidade ainda maior do que separados. Foram detectadas respostas positivas em 98,6% dos pacientes MB, mas as taxas diminuíram para pacientes PB, apresentando 74,4%.

Os pesquisadores Silva et al. (2021) investigaram a presença de DNA do *M. lepra* por amplificação RLEP-PCR (*Repetitive Sequence-Specific Element Polymorphism*) de esfregaços cutâneos de fenda no lóbulo da orelha (SSS) e títulos de anticorpos positivos para o *M. leprae* por anti-PGL-I quantificados também por ELISA. A amplificação de uma sequência repetitiva específica do genoma do *M. leprae* é conhecida como sequência RLEP. A sequência repetitiva específica RLEP é uma técnica utilizada principalmente para identificar e diferenciar cepas de microrganismos, como bactérias, com base em padrões de sequências repetitivas específicas no

DNA (MOHANTY et al., 2020). A amplificação RLEP dentro do grupo de novos casos foi maior quando comparada com a detecção de anti-PGL-I, sendo de 87,3% nos casos MB e 68,8% nos casos PB. A sorologia IgM anti-PGL-I apresentou sensibilidade de 55%, especificidade de 51% e acurácia de 52%, enquanto a detecção de DNA RLEP no SSS foi maior, com sensibilidade de 84%, especificidade de 75% e acurácia de 77%. A combinação dos dois testes laboratoriais aumentou a sensibilidade para 88%, especificidade para 77% e a precisão para 79%.

Houve concordância entre os estudos de Jian et al. (2019) e Silva et al. (2021) sobre os títulos de anticorpos expressos pelos pacientes multibacilares e paucibacilares, sendo que casos de hanseníase MB apresentaram níveis mais elevados de anticorpos circulantes específicos do antígeno. A detecção de título NDO-BSA por Jian et al. (2019) foi 97,3% dos pacientes MB e 69,2% para pacientes PB. Já a detecção de anti-PGL-I por Silva et al. (2021), no grupo de casos novos, foi de 68,8% nos casos MB e 37,5% nos casos PB.

Assim como Silva et al. (2021), os autores Mohanty e colaboradores (2020) avaliaram a reação em RLEP-PCR, mas nesse caso foram utilizadas amostras de tecidos de pacientes e seus resultados foram posteriormente comparados com a PCR de repetição de sequência inter-simples (ISSR-PCR) e microscopia de BAAR.

ISSR-PCR é uma técnica que requer um único primer baseado em marcadores SSR (microsatélites). Os SSRs são comuns no genoma e alterações nos SSRs, como deleção ou inserção, levam ao polimorfismo ISSR (POYRAZ, 2016). As regiões amplificadas por marcadores do tipo ISSR são abundantes e se encontram distribuídas por todo o genoma. Por apresentar baixa especificidade e geralmente acessar diversos locos polimórficos, os marcadores ISSR se apresentam como uma ferramenta importante para estudos de diversidade genética, principalmente em espécies pouco exploradas (GUPTA et al., 1994). Por outro lado, RLEP é um marcador codominante que produz bandas de 129 pares de bases em gel de agarose 2%. Os marcadores dominantes, como o ISSR, têm uma vantagem sobre os marcadores codominantes, pois são hipervariáveis, estão presentes em múltiplas cópias e estão espalhados por todo o genoma do organismo.

A identificação dos pacientes recrutados para o estudo de Mohanty e colaboradores (2020) foi baseada em dois sinais cardinais: lesão cutânea hipopigmentada com perda parcial ou total de sensibilidade na lesão e positividade para coloração de BAAR em amostras de esfregaço de pele. Dos 168 pacientes recrutados, 58 (34,52%) eram pacientes MB e 110

(65,47%) eram pacientes PB. Desses, 106 (63,09%) foram positivos para RLEP-PCR. Dos pacientes positivados 49 (46,22%) eram MB e 57 (53,77%) eram PB. Apenas 41 (24,40%) casos foram positivos para BAAR em microscopia de esfregaço cutâneo e 123 (73,21%) foram positivos para ISSR-PCR. Portanto, o resultado mostrou melhor eficácia do ISSR-PCR em relação ao RLEP-PCR e à microscopia de BAAR.

Belotti e colegas (2021) realizaram os testes de baciloscopia por Ziehl-Neelsen e Auramine O e o teste rápido ML flow para detecção de anticorpos IgM anti-PGL-I e compararam os resultados. O corante Auramina O é um cloridrato que resulta em uma mancha fluorescente e é utilizado para demonstrar organismos ácido-resistentes em um método semelhante ao Ziehl Neelsen. Os esfregaços foram primeiro corados com Auramine O e, após leitura em microscópio de fluorescência, os esfregaços foram corados por Ziehl-Neelsen. A leitura foi realizada qualitativamente (positiva ou negativa) pela técnica de microscopia de fluorescência. Para a técnica de Ziehl-Neelsen foi utilizada a contagem do Índice Baciloscópico em microscópio de luz comum.

O estudo contou com a participação de 94 pacientes com suspeita da doença. Desses, 31 (32,9%) foram diagnosticados com hanseníase. Neste estudo, a positividade do teste ML flow ocorreu em 87,0% (n= 27) dos pacientes e a positividade pela técnica de Ziehl Neelsen foi superior à técnica de fluorescência, com resultados de 22,3% e 15,9%, respectivamente. O teste ML Flow apresentou a maior positividade entre as três técnicas avaliadas e houve maior concordância entre os resultados do teste sorológico ML Flow e da baciloscopia por Ziehl-Neelsen, quando comparados aos resultados da baciloscopia por Auramine O. Os autores Contin et al. (2011) avaliaram o teste ML-Flow como auxiliar na classificação e tratamento da hanseníase. Encontraram positividade de 82% dos pacientes testados, mas ressaltaram que assim como outros testes sorológicos, o ML-Flow não é diagnóstico, pois a maioria dos PB não desenvolve anticorpos detectáveis, mas pode ser usado como ferramenta para classificação em PB e MB após o diagnóstico inicial.

CONCLUSÃO

De modo geral, as características imunológicas apresentadas nos 6 estudos trouxeram informações complementares para melhor compreensão da hanseníase e reações hansênicas. Foi demonstrado que a expressão aumentada do receptor TLR4+ em neutrófilos aparece como biomarcador universal da hanseníase. Já a reação hansênica tipo I está intimamente associada a

atividade da imunidade celular.

As avaliações dos SNPs constataram que o genótipo GA e o alelo A do rs735240 *DC-SIGN CD209* estão associados a hanseníase (PB). O SNP de *IL-17A* (rs2275913A/G) mostrou que o genótipo AG se associa a hanseníase tuberculóide (PB), enquanto o genótipo GG e alelo G estão associados à hanseníase virshowiana (MB). Em relação aos polimorfismos nas regiões TaqI e ApaI, as manifestações MB tiveram como característica o genótipo tt da TaqI e genótipo AA da ApaI. A proteção da hanseníase MB teve como característica o genótipo Aa da ApaI e os genótipos estendidos AaTT e AaTt de ApaI e TaqI.

A expressão de FOXP3 demonstrou aumento em pacientes MB em relação aos PB. A FOXP3 também tem maior expressão durante RT1 em comparação com RT2, sendo que a supressão realizada por FOXP3 regula de forma benéfica o processo inflamatório exacerbado, evitando lesões graves e incapacitantes durante a RT1.

Na análise dos métodos diagnósticos, aferiu-se que o conjugado NDO-LID apresentou maior sensibilidade que NDO-BSA e LID-1 separadamente. Quando os testes RLEP-PCR, ISSR-PCR e microscopia de BAAR foram comparados, os resultados mostraram maior eficácia de ISSR-PCR diante dos dois outros testes. Quando comparados os testes de Baciloscopia por Ziehl-Neelsen e Auramine O e o teste rápido ML flow, notou-se que o teste ML Flow foi mais sensível que os outros dois testes realizados e a baciloscopia de Ziehl Neelsen continua sendo a melhor opção se tratando da identificação da presença de bacilos.

Assim, é possível concluir que o sistema imunológico está intimamente relacionado com o desenvolvimento da hanseníase. Ao analisar as ações de células, receptores, citocinas e anticorpos separadamente e em conjunto é possível compreender como e porque a doença se manifesta de diferentes formas. O polimorfismo de nucleotídeos deixa mais claro a suscetibilidade para determinado pólo da doença. A análise dos métodos diagnósticos esclarece que o uso de antígenos para detecção de anticorpos e a identificação e análise do DNA do *M. leprae* são métodos eficazes e rápidos, principalmente quando comparados com a baciloscopia, que apresenta baixa sensibilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AARÃO T, SOUZA J, BOTELHO B, FUZZI H, QUARESMA J. Correlation between nerve growth factor and tissue expression of IL-17 in leprosy. *Microb Pathog* 90: 64-68, 2016.
2. ARAÚJO M. Hanseníase no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 36(3): 373-382, 2003.
3. BARRETO J, BRANDÃO J, FRADE M, ANDRADE V. Guia prático sobre a hanseníase. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 68p.
4. BECKER R, BÁRBARA LF. Genética Básica. Porto Alegre: Grupo A, 2018, 255p.
5. BELOTTI N, NARDI S, PASCHOAL V, MONTANHA J, PEDRO H, GAZETTA Z. Laboratory diagnosis of leprosy: Two staining methods from bacilloscopy and rapid ml flow test. *Int J Mycobacteriol* 10(4): 393-397, 2021.
6. BOVOLINI G, SILVA E, SOUZA V. Desempenho dos antígenos PGL-I, LID-1e NDO-LID para diagnóstico sorológico de hanseníase em pacientes e contatos domiciliares: revisão de literatura. *Hansen Int* 44: e-2368, 2019.
7. CARVALHO J, ARAÚJO M, REIS J, MAGALÃES V, ALVARES V, MOREIRA M, CARVALHO A, FILHO O, ARAÚJO M. Phenotypic and functional features of innate and adaptive immunity as putative biomarkers for clinical status and leprosy reactions. *Microbial Pathogenesis* 125: 230-239, 2018.
8. CAVALCANTI MSB. Receptor de lectina do tipo C DC-SIGN e seu papel na tuberculose e COVID-19. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação), Centro de Biociências, Biomedicina, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023, 47p.
9. CONTIN L, ALVES C, FOGAGNOLO L, NASSIF P, BARRETO J, LAURIS J, NOGUEIRA M. Uso do teste ML-Flow como auxiliar na classificação e tratamento da hanseníase. *An Bras Dermatol* 86(1): 91-95, 2011.
10. CORIOLANO C, NETO W, PENNA G, SANCHEZ M. Fatores associados ao tempo de ocorrência das reações hansênicas numa coorte de 2008 a 2016 em Rondônia, Região Amazônica, Brasil. *Cad Saude Publica* 37(12): e00045321, 2021.
11. CRUVINEL W, JÚNIOR D, ARAÚJO J, CATELAN T, SOUZA A, SILVA N, ANDRADE L. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev Bras Reumatol* 50(4): 434:461, 2010.
12. FARAG A, LABEED A, GERGES A, ELSHAIB M. Interleukin-17A in Egyptian leprosy

- patients: a clinical, genetic, and biochemical study. *An Bras Dermatol* 97(6): 735-741, 2022.
13. FONSECA A, SIMON M, CAZZANIGA R, MOURA T, ALMEIDA R, DUTHIE M, REED S, JESUS A. The influence of innate and adaptative immune responses on the differential clinical outcomes of leprosy. *Infect Dis Poverty* 6(1): 5, doi:10.1186/s40249-016-0229-3, 2017.
 14. FREITAS L, OLIVEIRA A. Utilização de polimorfismos de base única (SNPs) na identificação de doenças genéticas. *Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar*. ISBN 978-85-61091-05-7, 2009.
 15. GERMANO G, BRAGA A, CAMARGO R, BALLALAI P, BEZERRA O, MANTA F, BELONE A, SOARES C, DAS P, MORAES M, LATINI A, SOUZA V. Association of CD209 (DC-SIGN) rs735240 SNV with paucibacillary leprosy in the Brazilian population and its functional effects. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 117: e220014, 2022.
 16. GUPTA M, CHYI Y, SEVERSON J, OWEN J. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor Appl Genet* 89(7-8): 998-1006, 1994.
 17. HASTINGS RC. Leprosy Review. *LEPRA* 65(4): 1-132, 1994.
 18. JIAN L, XIUJIAN S, YUANGANG Y, YAN X, LIANCHAO Y, DUTHIE M, YAN W. Evaluation of antibody detection against the NDO-BSA, LID-1 and NDO-LID antigens as confirmatory tests to support the diagnosis of leprosy in Yunnan province, southwest China. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 114(3): 193-199, 2020.
 19. JUNIOR D, ARAÚJO J, CATELAN T, SOUZA A, CRUVINEL W, ANDRADE L, SILVA N. Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. *Bras J Rheumatol* 50(5):552-580, 2010.
 20. KIM C. FOXP3 and its role in the immune system. *Adv Exp Med Biol* 665: 17-29, 2009.
 21. KUNDAKCI N; ERDEM C. Leprosy: a great imitator. *Clin Dermatol* 37(3): 200-212, 2019.
 22. LIMA C, COSTA E, SAMPAIO L. Expression of FoxP3 in different forms of leprosy and reactions. *J Bras Patol Med Lab* 55(4): 434-441, 2019.
 23. MENDONÇA V, COSTA R, MELO G, ANTUNES C, TEIXEIRA A. Imunologia da hanseníase. *An Bras Dermatol* 83(4): 343-350, 2008.
 24. MOHANTY P, NAAZ F, BANSAL A, KUMAR D, SHARMA S, ARORA M, SINGH H, KATARA P, SONI N, PATIL S, SINGH. Molecular detection of *Mycobacterium leprae* using RLEP-PCR in post elimination era of leprosy. *Mol Biol Res Commun* 9(1):17-22,

2020.

25. MONHANTY P, BANSAL A, NAAZ F, PATIL S, ARORA M, SINGH M. Dominant marker (inter-simple sequence repeat-polymerase chain reaction) versus codominant marker (RLEP-polymerase chain reaction) for laboratory diagnosis of leprosy: A comparative evaluation. *Int J Mycobacteriol* 9(1): 18-23, 2020.
26. PAZ J, SILVESTRE M, MOURA L, FURLANETO I, RODRIGUES Y, LIMA K, LIMA L. Association of the polymorphism of the vitamin D receptor gene (VDR) with the risk of leprosy in the Brazilian Amazon. *Bioscience Reports* 41(7): BSR20204102, 2021.
27. POYRAZ I. Comparison of ITS, RAPD and ISSR from DNA-based genetic diversity techniques. *C R Biol* 339(5-6): 171-178, 2016.
28. PRUENSTER M, VOGL T, ROTH J, SPERANDIO M. S100A8/A9: From basic science to clinical application. *Farmacol Ther* 167: 120-131, 2016.
29. QUEIROZ T, CARVALHO F, SIMPSON C, FERNANDES A, FIGUEIRÊDO D, KNACKFUSS. Perfil clínico e epidemiológico de pacientes em reação hansênica. *Rev Gaúcha Enferm* 36(esp): 185-191, 2015.
30. ROSA T, TAVARES I, DIAS A, BARBOOZA M, COSTA F, BELONE A, HACKER M, BELISLE J, PESSOLANI M, CALVO T, MENDES M, PIAUY M, KAPUSCINSKI M, MARQUES M SALES A, MOREIRA M, MORAES M, SCHMITZ V. Whole blood transcriptomics reveals the enrichment of neutrophil activation pathways during erythema nodosum leprosum reaction. *Front Immunol* 15: 1366125, doi: 10.3389/fimmu.2024.1366125, 2024.
31. SAINI C, SIDDIQUI A, RAMESH V, NATH I. Leprosy Reactions Show Increased Th17 Cell Activity and Reduced FOXP3+ Tregs with Concomitant Decrease in TGF- β and Increase in IL-6. *PLoS Negl Trop Dis* 10(4): e0004592, 2016.
32. SILVA M, LI W, BOUTH R, GOBBO A, MESSIAS A, MORAES T, JORGE E, BARRETO J, FILHO F, CONDE G, FRADE M, SALGADO C, SPENCER J. Latent leprosy infection identified by dual RLEP and anti-PGL-I positivity: Implications for new control strategies. *PLoS One* 16(5): e0251631, 2021.
33. SINGH I, LAVANIA M, PATHAK V, AHUJA M, TURANKAR R, SING V, SENGUPTA U. VDR polymorphism, gene expression and vitamin D levels in leprosy patients from North Indian population. *Plos Negl Trop Dis* 12(11): e0006823, 2018.
34. STEEN E, WANG X, BALAJI S, BUTTE M, BOLLYKY P, KESWANI S. The Role of the

- Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-10 in Tissue Fibrosis. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 9(4): 184-198, 2020.
35. VAN BEERS SM, DE WIT MYL, KLASTER PR. MiniReview: The epidemiology of *Mycobacterium leprae*: Recent insight. *FEMS Microbiol Lett* 136: 221-230, 1996.
36. WHO. Global leprosy (Hansen disease) update, 2019: time to step-up prevention initiatives. *Wkly Epidemiol Rec* 95: 417-440, 2020.
37. ZAMBRANO J, MARTÍNEZ E, AVELAR M, MAGALLANES N, PÉREZ N. Th17 Cells in Autoimmune and Infectious Diseases. *Int J Inflam* 651503, doi: 10.1155/2014/651503, 2014.

**Estabilidade de fármacos e medicamentos: uma análise histórica das estratégias para a
determinação do prazo de validade**

Stability of drugs and medicines: a historical analysis of strategies for determining shelf life

Lucas Caike Oliveira Silva¹, Gracielle Ferreira Andrade¹, Marcelo Antonio de Oliveira¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, São Mateus,
Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Marcelo Antonio de Oliveira

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde

Rodovia Governador Mário Covas, Km 60, s/n, Litorâneo, CEP 29.932-540

São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Tel: +55 27 3312-1749

Email: marcelo.oliveira@ufes.br

Submetido em 02/10/2024

Aceito em 14/11/2024

DOI: <https://doi.org/10.47456/hb.v5i3.46290>

RESUMO

O desenvolvimento da indústria farmacêutica foi fortemente influenciado por mudanças nas técnicas e leis de estabilidade referente a medicamentos. Desde as primeiras regulamentações, que se concentravam principalmente na eficácia e segurança dos produtos, houve um progresso significativo na avaliação e controle da estabilidade. No início, as avaliações da estabilidade dos medicamentos eram mais simples e baseadas em testes físicos e químicos básicos. A incorporação de novas metodologias e diretrizes permitiram análises químicas mais detalhadas e precisas para IFA's e produtos de degradação. O objetivo deste trabalho é analisar as mudanças nas práticas e legislações sobre a estabilidade de fármacos e medicamentos, avaliando seu impacto na segurança e qualidade dos produtos farmacêuticos. Trata-se de uma revisão narrativa onde foi realizada uma coleta de dados no ano de 2024, incluindo pesquisas que foram apresentadas nas bases de dados SciELO e PubMed. Os artigos e textos utilizados na revisão foram selecionados com base na sua data de publicação e relevância para o tema proposto. Este estudo é necessário para entender as mudanças nas práticas e legislações relacionadas à estabilidade de fármacos e medicamentos, pois essas mudanças têm um impacto direto na segurança, eficácia e qualidade dos produtos farmacêuticos. Assim, a análise das normas e práticas atuais é fundamental para garantir a conformidade e a inovação no desenvolvimento de medicamentos.

Palavras-chave: estabilidade de produtos farmacêuticos; estabilidade de fármacos; estabilidade farmacêutica.

ABSTRACT

The development of the pharmaceutical industry has been strongly influenced by changes in drug stability techniques and laws. Since the first regulations, which focused mainly on the efficacy and safety of pharmaceutical products, there has been significant progress in the evaluation and control of stability. In the beginning, drug stability assessments were simpler and based on basic physical and chemical tests. The incorporation of new methodologies and guidelines allowed more detailed and accurate chemical analyses for APIs and degradation products. The objective of this work is to analyze the changes in practices and legislation on drugs and medicines stability, assessing their impact on the safety and quality of pharmaceutical products. This is a narrative review where data collection was carried out in the year 2024, including research that was presented in the SciELO and PubMed databases. The articles and texts used in the review were selected based on their publication date and relevance to the proposed topic. This study is necessary to understand the changes in practices and legislation related to drugs and medicines stability, as these changes have a direct impact on the safety, efficacy and quality of pharmaceutical products. Therefore, analysis of current standards and practices is essential to ensure compliance and innovation in drug development.

Keywords: stability of pharmaceutical products; stability of drugs; pharmaceutical stability.

INTRODUÇÃO

Os padrões atuais da indústria farmacêutica divergem dos métodos rudimentares e falta de padronização na preparação de medicamentos no início do século XX. A produção de medicamentos nessa época costumava ocorrer em pequenas farmácias locais, onde os farmacêuticos preparavam os produtos manualmente, muitas vezes sem medidas ou procedimentos padronizados, conforme descrito por Hackmann et al. (1989). Essa abordagem resultava em uma grande variabilidade na qualidade e eficácia dos medicamentos, além de apresentar riscos de contaminação e deterioração.

Na década de 1940, foram estabelecidas as primeiras medidas para prever o prazo de validade de medicamentos, um avanço significativo na regulamentação farmacêutica, mas com poucos recursos analíticos. Antes disso, a determinação do prazo de validade era arbitrária. No entanto, com o surgimento de estudos sistemáticos sobre estabilidade de medicamentos e métodos analíticos mais avançados, diretrizes mais precisas foram desenvolvidas (CONSIGLIERE DE MATTA & OLIVEIRA, 2021).

Esse progresso foi impulsionado em parte por desastres farmacêuticos notórios, como o caso da talidomida e sulfanilamida, que destacou a necessidade de regulamentações mais rígidas e testes de estabilidade abrangentes. Assim, a década de 1950 marcou um ponto de virada na história da regulamentação farmacêutica, com um foco renovado na segurança e eficácia dos medicamentos (FRANKS; MACPHERSON; FIGG, 2004).

Allen Jr. e colaboradores descrevem que um dos principais cenários no campo da tecnologia farmacêutica é a preocupação de entender como uma preparação farmacêutica se comporta ao longo do tempo, especialmente em condições normais de armazenamento. Isso nos permite garantir sua qualidade e segurança, estabelecendo um prazo de validade confiável. O compromisso da comunidade farmacêutica em fornecer tratamentos seguros e eficazes para os pacientes reflete nessa atenção particular à estabilidade dos medicamentos (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Ao longo das décadas houve um grande progresso na evolução da estabilidade farmacêutica e das normas regulamentadoras no Brasil e no mundo. O objetivo inicial é garantir a integridade físico-química e microbiológica dos medicamentos (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

A evolução das exigências normativas relativas à estabilidade de insumos e produtos

farmacêuticos foi impulsionada pelo desenvolvimento dos métodos analíticos, que agora são mais eficazes e seletivos, o que resulta em resultados mais precisos e rápidos. Diante do exposto foi conduzida uma revisão de literatura a fim de realizar uma análise abrangente da evolução das estratégias de determinar a estabilidade de fármacos e medicamentos ao longo da história, e contextualizar com o cenário regulatório atual.

MATERIAIS E MÉTODOS

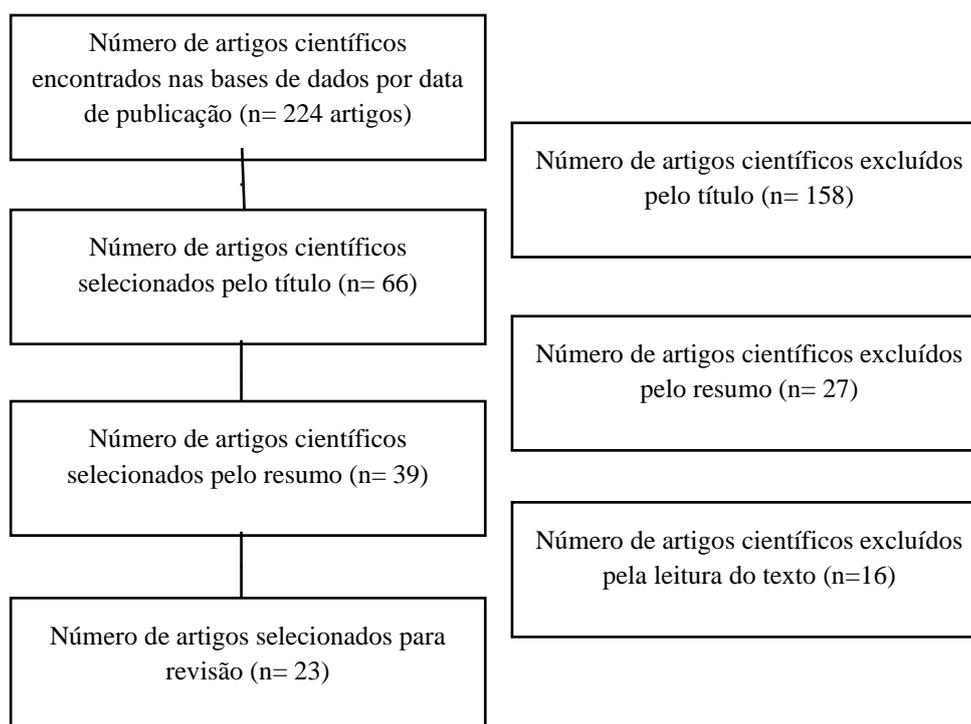
O presente estudo trata-se de uma revisão narrativa realizada por meio de levantamento bibliográfico com o objetivo de analisar a evolução dos estudos de estabilidade de fármacos e medicamentos ao longo da história. A metodologia adotada consistiu em uma busca sistemática de livros de referência, guias (guidelines), normas e legislações vigentes no banco de dados do ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use), ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e OMS (Organização Mundial da Saúde), juntamente à artigos de revisão ou que tratam do assunto nas bases de dados acadêmicas Scielo, PubMed e Google Scholar. Foram selecionados artigos publicados no período de 1989 a 2024, utilizando os termos "estabilidade de medicamentos", "estabilidade de fármacos" e "estabilidade farmacêutica" como palavras-chave, e realizadas buscas em português e inglês. No desenvolvimento desta revisão uma análise detalhada foi conduzida com base em uma seleção criteriosa de artigos científicos. A análise dos artigos envolveu a extração de informações sobre ano de publicação, objetivo do estudo, principais resultados e conclusões. Artigos cujo foco não estivesse diretamente relacionado ao tema proposto, seja em seus títulos, resumos ou textos completos, foram excluídos do conjunto de dados. Os dados foram sintetizados em uma narrativa coesa, que abrange desde as práticas relacionadas à estabilidade de medicamentos até os desafios e perspectivas atuais na área.

Além disso, nove obras de literatura que abordam conceitos fundamentais e históricos sobre o tema em questão foram incluídas na revisão, com o objetivo de contextualizar o estudo dentro das exigências regulatórias atuais. Documentos normativos, incluindo regulamentos, relatórios técnicos e guias (guidelines) foram examinados. Essa revisão proporciona uma compreensão abrangente e fundamentada sobre a estabilidade de fármacos e medicamentos, bem como seu contexto regulatório.

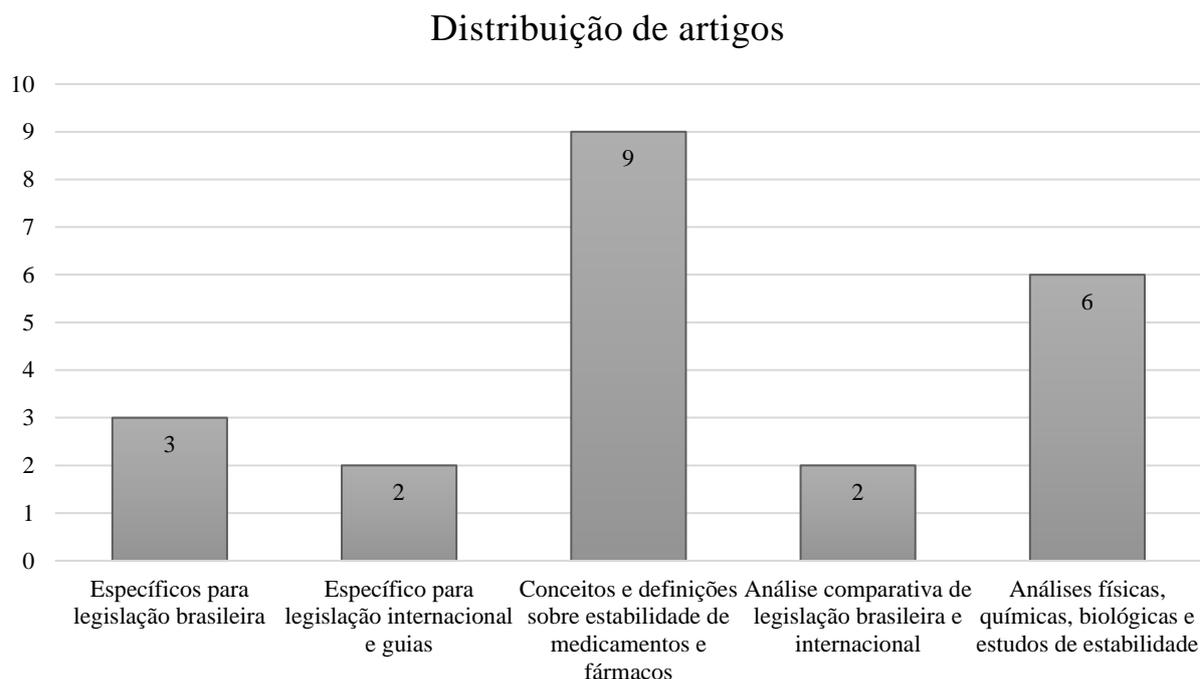
RESULTADOS

Inicialmente foram encontrados 224 registros nas bases de dados ao utilizar descritores e o filtro por ano de publicação. A seguir, a figura 1 apresenta um fluxograma em relação ao processo de seleção dos artigos considerando critérios de inclusão e exclusão. Ao final do processo, foram selecionados 22 estudos que fizeram parte da elaboração desta revisão narrativa.

Figura 1. Fluxograma da seleção de artigos científicos e seu refinamento.



A distribuição dos artigos foi realizada em diferentes categorias para proporcionar uma visão clara e estruturada dos temas abordados (Figura 2).

Figura 2. Relação de tópicos encontrados nos artigos.

REVISÃO DA LITERATURA

Guias internacionais

Estes guias internacionais não têm efeito de lei, como uma resolução publicada pela ANVISA ou alguma normativa estabelecida pelo FDA (Food and Drug Administration), EMA (Agência Europeia de Medicamentos), PDMA (Agência de Produtos Farmacêuticos e Dispositivos Médicos do Japão). No entanto, são guias estabelecidos pelo ICH com orientações harmonizadas dos conceitos, e podem servir de fundamentação para estabelecer uma resolução.

Na década de 1980, várias nações e regiões criaram seus próprios padrões e diretrizes. Esses padrões mais tarde seriam adotados pelo ICH e pela OMS. A agência americana FDA publicou diretrizes sobre qualidade e estabilidade de medicamentos, estabelecendo padrões para testes e avaliações (ICH, 2003). A fim de garantir a qualidade e segurança dos produtos farmacêuticos, a Agência de Produtos Farmacêuticos e Dispositivos Médicos (PDMA) do Japão criou guias semelhantes. Na União Europeia, cada país membro criou suas próprias regulamentações, mas as autoridades reguladoras de saúde locais trabalharam juntas para harmonizá-las (DARROW; AVORN; KESSELHEIM, 2018; FACCI et al., 2020).

O empenho dos Estados Unidos, Japão e União Europeia, juntamente com a OMS, culminou em um esforço conjunto para a criação do ICH em 1990. Esse conselho foi criado para apoiar a harmonização das regulamentações farmacêuticas entre os mercados globais mais importantes. Esse esforço colaborativo marcou a história da regulação farmacêutica internacional, promovendo a colaboração e a uniformidade dos padrões regulatórios em todo o mundo (FACCI et al., 2020).

O guia Q1A, "Stability Testing of New Drug Substances and Products", publicado no ano de 1993, foi a primeira diretriz publicada pelo ICH (ICH, 2003). Este guia estabeleceu os princípios e procedimentos para a realização de estudos de estabilidade de substâncias e produtos farmacêuticos, especificando tipos de testes, frequência de testes e critérios de avaliação. Também aborda sobre as zonas climáticas como parte da orientação sobre testes de estabilidade. Ele define as condições de armazenamento que devem ser usadas para estudos de estabilidade, baseando-se em diferentes zonas climáticas globais. O guia Q1A(R1), versão revisada, marcou um primeiro grande passo para a harmonização mundial dos requisitos regulatórios relacionados à estabilidade de medicamentos, permitindo a aprovação e comercialização de medicamentos em vários mercados internacionais (ICH, 2003).

O guia Q1A(R1) define e aborda os estudos de estabilidade de longa e curta duração, fotoestabilidade tal como estudos de degradação forçada, também conhecidos como estudos de estresse. Esses estudos são conduzidos sob condições severas e específicas para avaliar a estabilidade intrínseca dos IFAs (insumos farmacêuticos ativos) e dos medicamentos. O objetivo é identificar os principais caminhos de degradação e os produtos de degradação que podem surgir, fornecendo uma compreensão aprofundada sobre a estabilidade do produto farmacêutico (ICH, 2003).

Em 1994 foi publicado pelo ICH a primeira versão do guia Q3A, de título "Impurities in New Drug Substances" (ICH, 2006). Esse guia trata da avaliação de impurezas em novas substâncias farmacêuticas e fornece diretrizes sobre como identificar, quantificar e controlar essas impurezas durante o processo de desenvolvimento e fabricação de medicamentos. Ao longo do tempo, o Q3A tem sido uma referência essencial para as autoridades reguladoras e para a indústria farmacêutica, fornecendo uma estrutura clara para a avaliação e o gerenciamento de impurezas em novas substâncias. O guia foi substituído pela sua atualização, correspondente ao documento Q3A(R2) em 2006 (ICH, 2006).

Publicado em 1995 pelo ICH, o guia Q1B denominado "Photostability Testing of New

Drug Substances and Products”, aborda especificamente os testes de fotodegradação, que avaliam a resistência dos medicamentos à luz. Este manual fornece instruções detalhadas sobre os requisitos para a fonte de luz, a intensidade da luz, os controles necessários e os parâmetros a serem monitorados durante os testes (ICH, 1996). A fotoestabilidade é uma característica importante a ser considerada durante o desenvolvimento e a fabricação de medicamentos, pois muitas substâncias podem sofrer degradação quando expostas à luz.

Posteriormente, em 2019, foi publicada a versão final do guia ICH Q3D (R1), "Guideline for Elemental Impurities", que fornece orientações sobre os limites aceitáveis de impurezas elementares em medicamentos, provenientes de IFAs, excipientes ou do processo de fabricação. A presença de impurezas elementares pode afetar a estabilidade dos medicamentos, pois metais pesados podem catalisar reações de degradação dos IFAs e interagir com excipientes, alterando suas propriedades físicas e químicas (ICH, 2019; 2022). Atualmente o guia conta com uma versão atualizada (Q3D(R2)), publicada no ano de 2022.

Ao longo dos anos, a ANVISA adotou gradualmente as diretrizes do ICH, sendo incorporadas às suas práticas regulatórias. A adoção de todas as diretrizes não ocorreu em um ano específico. Em vez disso, isso ocorreu ao longo de décadas, e à medida que o ICH publicava novas diretrizes e revisões, a ANVISA as incorporava ao seu sistema regulatório (MUNEKATA, 2020).

Legislações no Brasil

Após a criação da ANVISA em 1999, o cenário regulatório brasileiro passou por importantes transformações. No que diz respeito à legislação específica para estudos de estabilidade de medicamentos no Brasil, critérios técnicos detalhados para conduzir estudos de estabilidade de medicamentos foram estabelecidos pela Resolução Específica (RE) nº 485 de 19 de março de 2002. Essa resolução descreve os tipos de estudos necessários, como acelerados e de longa duração, mas com menos especificidade. A determinação de condições de armazenamento, como temperatura e umidade relativa, e pesquisas de estabilidade acelerada e de longa duração, foram os principais critérios estabelecidos. Assim, com base nos resultados desses estudos, era necessário justificar o prazo de validade dos medicamentos. Os parâmetros de qualidade dos medicamentos, como suas propriedades químicas, físicas e microbiológicas deveriam ser avaliados regularmente (BRASIL, 2002).

Posteriormente, a publicação da Resolução nº 398, de 29 de julho de 2004, complementa

as normas anteriores e define requisitos detalhados para a realização de estudos de estabilidade de medicamentos no Brasil. A resolução estabelece condições de armazenamento para várias zonas climáticas, incluindo temperaturas e umidade relativas específicas, classifica o Brasil como uma zona climática IV (quente e úmida) e exige estudos de estabilidade acelerada e de longa duração, bem como estudos de estabilidade reduzido, acompanhamento e fotoestabilidade. Em resumo, a RE aprimorou as diretrizes para estudos de estabilidade, abordando pontos importantes com mais precisão, alinhada com as melhores práticas internacionais (BRASIL, 2004). A RE também apresenta um modelo de relatório de estabilidade, demonstrando como devem ser apresentados os resultados para a ANVISA. A classificação de zona climática posteriormente foi alterada de acordo com o guia Q1A(R2) de 2006, alterando o Brasil de Zona IV para IVb de clima quente e muito úmido. O ICH propôs uma divisão da Zona IV em IVa e IVb no Q1A (R2). Assim, considera-se que o fármaco ou medicamento deve ser estável pelo prazo de validade no Brasil na condição de 30 °C e 75% UR (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação internacional de zonas climáticas segundo ICH Q1A(R2) (ICH, 2006).

Zona Climática	Classificação	Temperatura	Umidade Relativa (UR)	Países
Zona I	Clima temperado	21°C ± 2°C	45% ± 5%	Reino Unido, Canadá e outros.
Zona II	Clima subtropical com umidade moderada	25°C ± 2°C	60% ± 5%	Japão, Argentina e outros.
Zona III	Clima quente e seco	30°C ± 2°C	35% ± 5%	Botswana, Iraque e outros.
Zona IVa	Clima quente e úmido	30°C ± 2°C	65% ± 5%	Bolívia, Hong Kong e outros.
Zona IVb	Clima quente e muito úmido	30°C ± 2°C	75% ± 5%	Brasil, Índia

A RE nº 1, de 29 de julho de 2005, estabelece definições gerais sobre estabilidade: estudo em condições “acelerada” e “longa duração”; definição do prazo de validade e condições de armazenamento para este estudo; seleção de lotes, e frequência dos testes. Essa resolução introduziu uma mudança significativa, exigindo a realização de ensaios para quantificação e identificação de produtos de degradação. Além disso, a RE 1/2005 fornece instruções detalhadas sobre como realizar estudos de estabilidade. Essas instruções levam em consideração fatores intrínsecos, como as características físico-químicas dos IFAs e excipientes

e fatores extrínsecos como luz, temperatura e umidade, além do material de acondicionamento (BRASIL, 2005; MEIRELLES, 2014).

A ANVISA criou a instrução técnica IT nº 01 de 15 de julho de 2008 para explicar os requisitos para identificar e quantificar os produtos de degradação em medicamentos. Isso já havia sido solicitado na RE no 1/2005, mas não havia detalhes suficientes, o que deixava dúvidas nos responsáveis pelo cumprimento dessas normas. Esse informe técnico levantou a necessidade de realizar estudos de estresse para verificar a estabilidade dos medicamentos, contribuindo para a segurança e eficácia dos produtos (BRASIL, 2008; FACCI et al., 2020). Esta instrução técnica ainda é vigente até o presente momento.

A publicação da primeira Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) sobre estabilidade de medicamentos veio com a RDC nº 50/2011 da ANVISA, que introduziu conceitos e normas específicas para a realização de estudos de estabilidade para registro ou alterações pós-registro de produtos biológicos. Entre as principais inovações, destacam-se os estudos de estabilidade cumulativa e de estresse, essenciais para avaliar o impacto de condições de armazenamento e manipulação. Além disso, a normativa estabelece que o prazo de validade dos produtos biológicos deve ser determinado exclusivamente por estudos de longa duração. Essa RDC ainda é vigente com alterações propostas pela RDC nº 25/2013 (BRASIL, 2011; FACCI et al., 2020).

A Resolução RDC nº 45, de 9 de agosto de 2012, foi criada para estabelecer diretrizes claras sobre a realização de estudos de estabilidade de IFAs. Antes da RDC nº 45/2012, a legislação brasileira não possuía normas específicas detalhadas para a realização de estudos de estabilidade de IFAs. A normativa descreve condições controladas de temperatura e umidade, mostrando situações reais de armazenamento e transporte, e estabelece prazos mínimos para estudos acelerados e de longa duração. A criação dessa resolução foi motivada pela necessidade de preencher essa lacuna regulatória, proporcionando diretrizes claras para assegurar que os IFAs mantivessem suas características de qualidade, segurança e eficácia durante todo o período de armazenamento e uso (BRASIL, 2012; MEIRELLES, 2014).

Mesmo com a contínua evolução da legislação farmacêutica brasileira, focando na estabilidade de medicamentos, ainda havia lacunas específicas. Nesse contexto, a RDC nº 53, de 4 de dezembro de 2015, foi criada para introduzir uma abordagem mais detalhada para a identificação, notificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos. Demanda uma documentação mais completa e relatórios detalhados para submissão à ANVISA, promovendo maior transparência e conformidade regulatória. A RDC ainda está

ativa, entretanto, com alterações presentes na RDC N° 171/201 (BRASIL, 2015).

Por fim, a RDC N° 318 de 6 de novembro de 2019, emitida pela ANVISA, representa um marco significativo no cenário regulatório relacionado à estabilidade de medicamentos no Brasil. Esta resolução estabelece critérios específicos para a condução de Estudos de Estabilidade de IFAs e de uma ampla gama de medicamentos, incluindo novos, genéricos, similares, dinamizados, específicos, de notificação simplificada, fitoterápicos e radiofármacos. A RDC 318/2019 enfatiza que os estudos de estabilidade acelerados e de longa duração são essenciais para a avaliação da qualidade e segurança de produtos. O estudo de longa duração e de acompanhamento avalia a estabilidade ao longo do tempo até o prazo de validade, enquanto o estudo acelerado ajuda a prever o comportamento do produto em condições extremas em um período mais curto. Implementou-se também o acompanhamento do estudo de estabilidade em uso para medicamentos multidoses (MINÉ & MORAIS, 2013; BRASIL, 2019).

Uma diferença significativa da RDC 318/2019 em relação às resoluções anteriores específicas para estabilidade de medicamentos é a sua abordagem mais abrangente e integrada, revogando as principais RDCs 398/2001, 01/2005 e 45/2012 que serviram como base para essa integração. Além disso, a adoção da abordagem baseada em risco é uma mudança significativa, pois incentiva uma análise mais detalhada e contextualizada dos elementos que afetam a estabilidade dos medicamentos, o que resulta em uma avaliação mais precisa dos riscos associados. Outras diferenças podem incluir padrões mais precisos para a validade dos dados de estabilidade, especificações para estudos de estabilidade acelerada e de vida útil, e um foco maior na avaliação regular da estabilidade dos produtos. Assim, a RDC alinha-se às práticas internacionais, incorporando diretrizes estabelecidas por organizações como a ICH e OMS, o que promove uma maior harmonização (BRASIL, 2019; GUIMARÃES, 2020).

A entrada da ANVISA para o Conselho Internacional de Harmonização marcou um importante avanço para a regulação de medicamentos no Brasil. Em novembro de 2016, a ANVISA tornou-se membro observador da ICH, iniciando um processo de integração às melhores práticas regulatórias internacionais. Em novembro de 2019 a ANVISA foi oficialmente aceita como membro pleno da ICH, um reconhecimento de sua capacidade regulatória e compromisso com a harmonização global (BRASIL, 2022).

Como resultado dessa adesão, a ANVISA pode participar ativamente da elaboração e revisão das diretrizes da ICH, contribuindo para o desenvolvimento de padrões que garantam a qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos. A ANVISA ajudou a promover a

harmonização dos padrões regulatórios do Brasil com os internacionais, por meio da adoção de várias diretrizes da ICH, beneficiando a indústria farmacêutica brasileira, pois permite acesso mais rápido a medicamentos novos e seguros (BRASIL, 2022).

Tipos de estabilidade de um IFA ou Medicamentos

O conceito de estabilidade de medicamentos (Tabela 2) refere-se à capacidade de um medicamento de manter suas propriedades físicas, químicas, microbiológicas e biofarmacêuticas dentro de especificações apropriadas por um tempo específico, conforme relatado por Carvalho e colaboradores (2005).

Tabela 2. Conceitos dos tipos de estabilidade.

Estabilidade química	Capacidade de um composto farmacêutico manter sua identidade química, pureza e teor ao longo do tempo, dentro dos limites especificados ao longo do prazo de validade (CARSTENSEN & RHODES, 2000).
Estabilidade física	Capacidade de um produto farmacêutico manter suas propriedades físicas originais, como aspecto, dureza, friabilidade, desintegração, tamanho de partícula, redispersibilidade, viscosidade, e outras ao longo do prazo de validade (CARSTENSEN & RHODES, 2000).
Estabilidade microbiológica	Capacidade de uma formulação farmacêutica de resistir ao crescimento de micro-organismos ou de manter-se na condição microbiológica especificada para a forma farmacêutica durante seu período de validade (AULTON & TAYLOR, 2018; BRASIL, 2019).
Estabilidade terapêutica	Capacidade de um produto farmacêutico manter sua eficácia terapêutica ao longo do prazo de validade. Deve-se garantir resultados consistentes e previsíveis no tratamento da condição médica para a qual o medicamento é prescrito (ICH, 2003; ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).
Estabilidade toxicológica	Capacidade de um produto farmacêutico manter-se livre de substâncias tóxicas ou degradantes que possam representar riscos à saúde do paciente ao longo do seu prazo de validade. Isso inclui evitar impurezas ou produtos de degradação que podem comprometer a segurança do medicamento e causar efeitos prejudiciais (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Acompanhamento da estabilidade de um medicamento

Os estudos de estabilidade são uma série de testes que avaliam como as propriedades de um produto mudam em diferentes condições ambientais dentro de um intervalo de tempo determinado (Tabela 3). Esses testes fornecem informações importantes para determinar seu prazo de validade e condições adequadas de armazenamento (BRASIL, 2019). O estudo de longa duração avalia a estabilidade ao longo do tempo até o prazo de validade, enquanto o estudo acelerado ajuda a prever o comportamento do produto em condições extremas em um período mais curto. Ambos são essenciais para manter os medicamentos e proteger a saúde pública.

Além disso, os estudos de estabilidade são essenciais para cumprir os regulamentos da ANVISA, da FDA e da EMA. Essas agências exigem dados de estabilidade para a aprovação e registro de medicamentos, garantindo que os produtos no mercado atendam aos padrões de qualidade necessários. É impossível garantir que os medicamentos mantenham suas propriedades terapêuticas e não causem danos ao longo do tempo sem esses estudos (WATERMAN & ADAMI, 2005).

Para solicitações de regularização de IFA e registro de medicamento com um novo IFA no país, é necessário apresentar estudos de estabilidade de longa duração concluídos, com resultados de no mínimo doze meses, além de estudos de estabilidade acelerados concluídos no momento do protocolo.

Tabela 3. Comparativo das condições de estudos de estabilidade entre a legislação americana (Zona I) e a legislação brasileira (Zona IVa) para medicamentos armazenamento em temperatura ambiente.

	Zona	Estabilidade longo prazo	Estabilidade Acelerada	Degradação forçada	Estabilidade de acompanhamento
US Pharmacopeia	I	25°C ± 2°C / 60% ± 5% U.R. em 12 meses	40°C ± 2°C / 75% ± 5% U.R. durante 6 meses	50°C ou 60°C / 75% ± 5% U.R.	25°C ± 2°C / 60% ± 5% U.R. pelo tempo de prazo de validade
RDC 318/2019	IVb	30 °C ± 75 % U.R. pelo tempo de prazo de validade	40 °C / 75 % U.R. durante 6 meses	40°C ou 50°C / 75% ± 5% U.R. dependendo do produto e sensibilidade	30°C ± 2°C / 75% ± 5% U.R.

Estudo de estabilidade de longa duração

O estudo visa verificar a estabilidade física, química, biológica e microbiológica do medicamento para garantir que ele atenda às especificações aceitáveis durante o prazo de validade. Os estudos de estabilidade de longa duração (Tabela 4) devem ser realizados nas condições recomendadas para o armazenamento do produto, que incluem temperatura e umidade relativas controladas (BRASIL, 2005).

Os estudos devem ser realizados por um período mínimo que cubra o prazo de validade pretendido do medicamento; isso pode variar de 12, 24 meses ou mais, dependendo do prazo de validade que o fabricante deseja estabelecer.

Tabela 4. Condições de armazenamento para realização de estudos de estabilidade de longa duração e acompanhamento para medicamentos, preconizados na RDC 318/2019 (BRASIL, 2019).

Condição de armazenamento	Temperatura (°C)	Umidade relativa
Temperatura ambiente	30°C ± 2°C	75% ± 5%
Refrigeração	5°C ± 3°C	-
Congelamento	-20°C ± 5°C	-

Ao longo dos estudos de longa duração os ensaios de qualidade como identificação e teor do fármaco, quantificação de produtos de degradação, e avaliação dos ensaios característicos para cada forma farmacêutica em estudo, como pH, determinação de peso, determinação de volume, dureza, friabilidade, desintegração, dissolução e outros, devem ser realizados para garantir que o medicamento permaneça estável e dentro dos parâmetros especificados (ICH, 2003).

É importante ressaltar que as câmaras climáticas, previstas na RDC nº 318/2019, desempenham um papel crucial nos estudos de estabilidade de medicamentos, assegurando a conformidade com as exigências regulatórias específicas do Brasil para os estudos de longa duração e acelerado. Essas câmaras permitem, ainda, simular e controlar condições específicas de temperatura e umidade, reproduzindo ambientes extremos e variados que os produtos farmacêuticos podem encontrar durante seu armazenamento e uso (LUIZE; JANZ, LEITE, 2016).

Estudo de estabilidade acelerada

O estudo de estabilidade acelerada avalia a estabilidade de um medicamento em ambientes mais severos do que os padrões de armazenamento (Tabela 5). O objetivo é acelerar as reações de degradação e garantir uma previsão rápida da vida útil do produto em condições normais de armazenamento. Este método é particularmente útil durante o desenvolvimento de medicamentos, pois permite identificar problemas potenciais de estabilidade em um curto período, fornecendo dados essenciais para ajustar formulações, embalagens e processos de fabricação (BRASIL, 2005).

Tabela 5. Condições de armazenamento para realização de estudos de estabilidade acelerado para medicamentos, preconizados na RDC 318/2019 (BRASIL, 2019).

Condição de armazenamento do medicamento	Temperatura (°C)	Umidade relativa	Duração de estudo
Temperatura ambiente	40°C±2°C	75% ± 5%	0,3 e 6 meses
Congelamento	Não necessário	Não necessário	-
Refrigeração (2-8°C)	25°C±2 ou 30°C±2	60%UR ou 65%UR ou 75%UR±5%	0, 3 e 6 meses

Os ensaios de teor, quantificação de produtos de degradação, dissolução e demais testes preconizados para o controle de qualidade do medicamento devem ser realizados. Os testes são feitos no início e no intervalo de três e seis meses (BRASIL, 2005). A legislação brasileira permite o registro provisório de um medicamento com prazo estipulado de 18 meses caso o estudo acelerado mostre resultados satisfatórios, no entanto é obrigatório a entrega dos resultados do estudo de longo prazo o fabricante faça a opção de registro provisório.

Estudo de estabilidade de acompanhamento

O Mercosul e a RE 01/05 exigem estudos de acompanhamento. Estes devem ser feitos anualmente com base nas condições climáticas, exceto para produtos que não mudaram desde o registro. No momento da inspeção, esses estudos devem ser entregues à ANVISA (BRASIL, 2005).

Embora as diretrizes do ICH não mencionem especificamente o termo "estudo de prateleira", a indústria farmacêutica o usa com frequência para se referir a estudos de estabilidade realizados em condições representativas do ambiente de armazenamento em

prateleiras, descrito nas Boas Práticas de Fabricação (BPF) (BRASIL, 2013; BRASIL, 2019).

Atualmente, no âmbito nacional, o estudo de acompanhamento (ou monitoramento contínuo) de estabilidade de medicamentos é regulamentado pela Resolução RDC nº 318/2019. Após a aprovação inicial e entrada no mercado, o objetivo do estudo de acompanhamento da estabilidade de medicamentos, também conhecido como "estudo de prateleira", é garantir que os produtos se mantenham como estáveis (Tabela 6), de acordo com os resultados realizados no estudo de estabilidade de longa duração (BRASIL, 2019).

Tabela 6. Exemplo de relatório de estudos de estabilidade de um comprimido ao longo do tempo.

Relatório de estudo de estabilidade													
Produto: Paracetamol 500 mg comprimidos													
Lote: PCT132465													
Embalagem primária: Blister de alumínio/PVC													
Princípio(s) ativo(s): acetaminofeno													
Nome IUPAC: N-(4-Hidroxifenil)-acetamida													
Plano de estudo: Estudo de estabilidade de longo prazo, acelerado e acompanhamento													
Início de estudo: 01 de março de 2024					Validade prevista: 24 meses								
Estudo		Longa duração (30°C/75% UR)				Acelerado (40°C/75% UR)			Acompanhamento				
Tempo (meses)		0	3	6	9	12	18	24	0	3	6	12	24
Ensaio	Limites	-				-			-				
Aparência	deverem manter coloração, forma e superfície sem defeitos	Os resultados são inseridos para cada intervalo de tempo.				Os resultados são inseridos para cada intervalo de tempo.			Os resultados são inseridos para cada intervalo de tempo.				
Umidade	Máx. 3,0%												
Teor	90,0-110,0% do valor declarado												
Dissolução	≥ 80% em 30 minutos												
Dureza	Informativo												
Friabilidade	Máx. 1,5%												
Desintegração	Máx. 15 min												

Estudo de fotoestabilidade

Testes de fotoestabilidade avaliam a resistência de um medicamento à luz. Essas pesquisas simulam os efeitos da luz solar e artificial expondo um produto farmacêutico à luz intensa em condições controladas. Os estudos de fotoestabilidade incluem exposição controlada de medicamentos a fontes de luz que emitem luz visível e luz ultravioleta. Após a exposição, as amostras são analisadas para identificar mudanças químicas, como a degradação do fármaco, formação de produtos de degradação, mudanças físicas, como mudanças de cor ou odor. Os resultados desses estudos ajudam a definir as condições adequadas de armazenamento e, se necessário, a criação de embalagens que protejam o medicamento da luz (MEIRELLES, 2014, BRASIL, 2019).

Estudo de estabilidade em uso

O estudo de estabilidade em uso, também conhecido como estudo de estabilidade após abertura, avalia a estabilidade de um produto farmacêutico multidoso sob condições de uso normais após sua primeira abertura.

Os estudos de estabilidade em uso são geralmente realizados para formas farmacêuticas que, uma vez abertas ou preparadas, podem estar sujeitas a condições que diferem significativamente das condições de armazenamento inicial. O objetivo deste estudo é determinar a duração em que a qualidade, segurança e eficácia de um produto permanecem inalteradas durante o tempo em que está em uso (ICH 2003; BRASIL, 2019).

De acordo com o artigo nº 29 da RDC 318/2019, um estudo de estabilidade em uso deve ser realizado sob uma das condições especificadas nos Estudos de Estabilidade de Longa Duração.

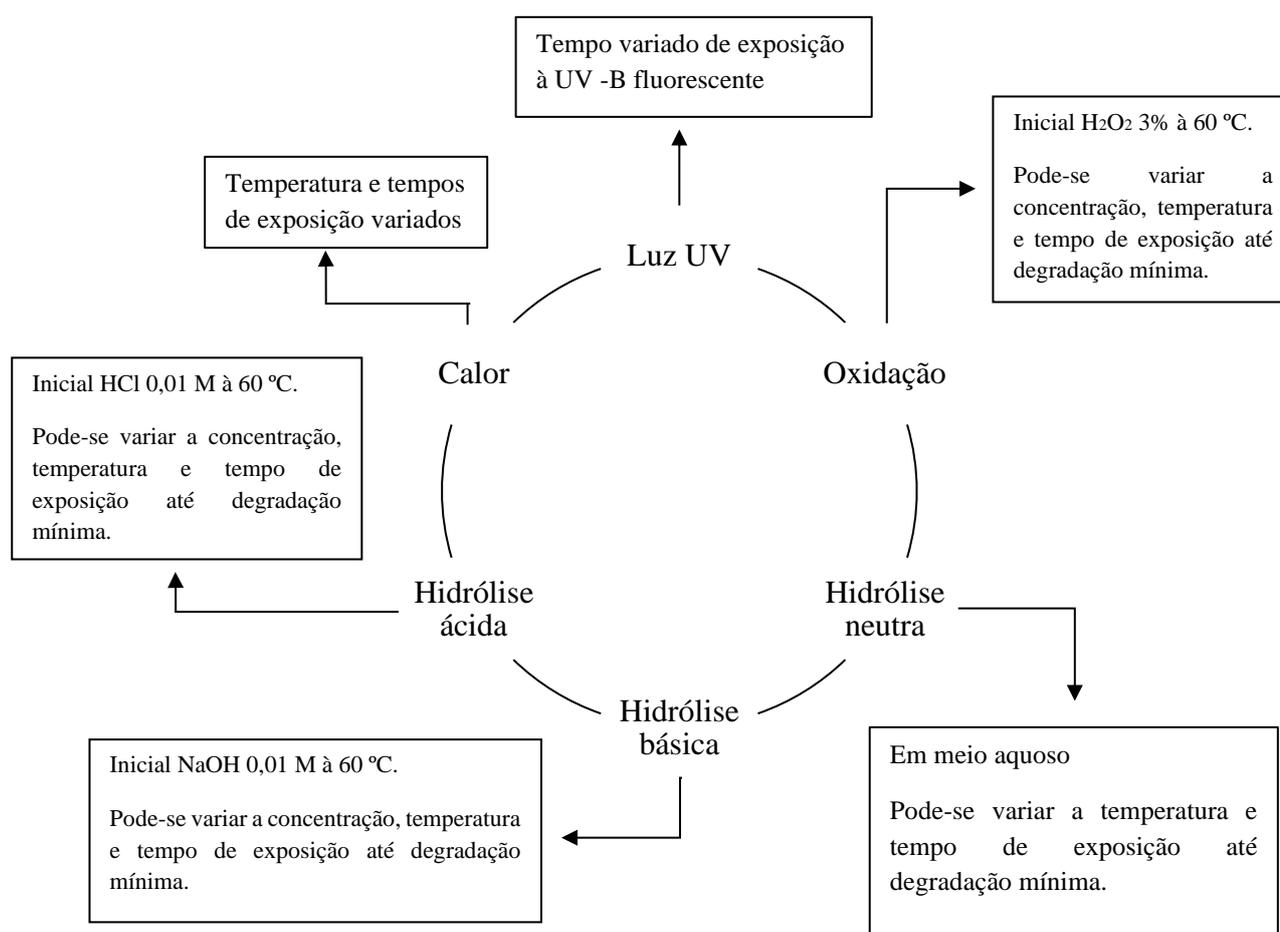
Estudo de degradação forçada do IFA

Os estudos de degradação forçada são uma abordagem para a análise da estabilidade de compostos farmacêuticos com o objetivo de identificar produtos de degradação e compreender como a degradação ocorre. Para acelerar a decomposição e observar como o fármaco se degrada, esses estudos expõem o IFA a condições extremas de estresse como calor, luz, umidade, pHs extremos e oxidação (Figura 3) (BRASIL, 2015).

As empresas devem fazer estudos de degradação forçada para se adequar às normativas da ANVISA, expondo amostras de IFAs à umidade, calor, soluções ácidas e básicas, condições

de oxidação, e exposição à luz. Um exame abrangente do perfil de degradação é necessário para a conclusão desses estudos. Isso incluirá uma descrição dos resultados e as técnicas analíticas utilizadas para detectar, identificar, caracterizar e quantificar os produtos de degradação presentes no IFA e no medicamento (BRASIL, 2015).

Figura 3. Proposta de condições de estresse do IFA, a ser considerada em diferentes concentrações do agente de estresse, por diferentes tempos de exposição e temperatura até degradação mínima de 10%.



As condições experimentais de agentes de estresse precisam ser alteradas constantemente nos ensaios até obtenção de uma degradação satisfatória, isto quando o fármaco é passível de degradação. O objetivo é descobrir rotas de degradação e a cinética de degradação do fármaco para avaliar a real importância do evento. Embora haja padrões gerais de reações de degradação, a complexidade das moléculas e sua obtenção exige que as condições de estresse sejam avaliadas (BRASIL, 2015).

Para considerar uma reação de degradação do IFA, a ANVISA exige um grau de degradação superior a 10% e inferior à degradação total. Além disso, existem referências que podem ser utilizadas como base para determinar os endpoints de cada condição de estresse a ser avaliada. Existem relatos que algumas empresas propõem um endpoint de degradação de 30% (BRASIL, 2015; COSTA et al., 2018), mas outros valores podem ser considerados.

Os estudos forçados de degradação nem sempre resultam em decomposição do IFA. Em alguns casos, os produtos de degradação não se formam mesmo após o IFA ou o medicamento serem submetidos às condições de estresse extrema e isto ocorre devido à alta estabilidade deste fármaco. Quando a degradação nos testes for inferior a 10%, a empresa deve fornecer uma justificativa técnica bem fundamentada, mostrando que o IFA ou o medicamento são estáveis nas condições testadas e, portanto, não existe degradação significativa a ser considerada (PLETISKAITZ, 2019). A estabilidade do medicamento deve ser suficiente para garantir que a substância ativa mantenha sua eficácia e segurança aceitáveis ao longo de sua vida útil (prazo de validade). Quando o fármaco é passível de degradação deve-se também avaliar a significância do agente estressante utilizado na condição real de armazenamento do medicamento. Possíveis reações de degradação de um IFA podem influenciar as escolhas de excipientes, embalagem, condições de armazenamento e condições de fabricação de medicamentos, com o objetivo de reduzir as reações de degradação da substância ativa.

Fatores que alteram a estabilidade de fármacos e medicamentos

Alguns fatores que exercem grande influência na estabilidade dos produtos farmacêuticos incluem os extrínsecos, intrínsecos, relativos à formulação, processo de fabricação, material de embalagem e transporte (OLIVEIRA, 2001; LEITE, 2006).

Segundo Lachman; Lieberman; Kanig (2001), a estabilidade dos medicamentos é crucial para evitar a perda de eficácia terapêutica, formação de produtos tóxicos e variações na concentração do fármaco. Compreende-se que vários fatores como temperatura, pH, polimorfismo, oxidação, umidade, luz e interações entre os componentes do medicamento são considerados as principais fontes que tem potencial para alterar a estabilidade de um medicamento, levando à perda parcial ou total da atividade farmacológica.

Fatores extrínsecos

Fatores extrínsecos são influências ambientais que podem afetar a estabilidade dos medicamentos (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

A **temperatura** é um fator crítico na estabilidade de medicamentos, pois influencia diretamente os processos de degradação química e física. Flutuações extremas de temperatura, tanto para cima quanto para baixo, podem acelerar esses processos, dependendo se a reação é endotérmica ou exotérmica, e comprometer a qualidade do produto farmacêutico. Como exemplo, medicamentos sensíveis ao calor podem sofrer degradação do fármaco com formação de produtos de degradação em temperaturas elevadas, enquanto temperaturas baixas podem causar cristalização de soluções, reduzindo sua eficácia terapêutica (OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011; USP, 2020). O aumento da temperatura pode levar à ruptura de ligações químicas. As reações de degradação mais comuns são a descarboxilação e a desidratação, e os grupos químicos sensíveis nos fármacos são as carboxilas, álcoois e polióis. É aconselhado controlar a temperatura de exposição tanto de fármacos quanto dos medicamentos para evitar reações de degradação.

A **exposição à luz** é um fator crítico na estabilidade dos medicamentos, pois pode desencadear reações fotoquímicas que levam à degradação dos componentes ativos. A luz ultravioleta é conhecida por causar danos significativos, alterando as estruturas moleculares dos medicamentos e produzindo produtos de degradação indesejados (SOUZA, 2014; USP, 2020).

Este processo de fotólise envolve a absorção de luz na região do visível ou ultravioleta pelo fármaco, que quebra ligações químicas e cria produtos de degradação. Estas reações são complexas, como a isomerização, polimerização, rearranjos, ruptura de ligações, e racemização. Para garantir a segurança e a eficácia de medicamentos sensíveis à luz, eles devem ser protegidos da exposição. Para proteger esses medicamentos, é imprescindível o uso de embalagens que evitam ou bloqueiam a exposição à luz, como frascos de vidro âmbar, blisters de alumínio opaco ou materiais plásticos com proteção contra radiação ultravioleta. Ao impedir que a luz provoque reações de fotólise, essas embalagens ajudam a preservar a estabilidade do medicamento. Isso garante que o produto manterá seu teor (potência) e integridade ao longo do tempo de prateleira (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

O **oxigênio atmosférico** pode desempenhar um papel importante na degradação de medicamentos, particularmente em formulações sensíveis à oxidação. A oxidação pode causar produtos de degradação indesejados e é especialmente preocupante (OLIVEIRA, 2001; USP, 2020). As principais alterações em um produto oxidado são a cor, odor e precipitação.

A oxidação é uma preocupação importante no que diz respeito à estabilidade de medicamentos. Na reação de oxidação ocorre a perda de elétrons de um átomo ou molécula ou

perda de hidrogênio (desidrogenação). A presença de alguns grupos funcionais na molécula do fármaco indica possibilidades destas reações. Hidroxilas alcoólicas, hidroxilas fenólicas, insaturações e carbonilas aldeídicas tornam a molécula susceptível à oxidação, e é importante ressaltar que a presença destes grupos não garante a ocorrência da reação. Estas reações de oxidação são catalisadas por calor, luz (natural ou artificial), e traços de metais. Para evitar ou reduzir a oxidação deve-se remover traços de metais, evitar a luz e controlar a temperatura. Agentes quelantes como o EDTA, agentes antioxidantes e embalagens protetoras (da luz) são frequentes nas formulações de fármacos que oxidam. Deve-se evitar a exposição ao oxigênio atmosférico no ato de fabricação do medicamento, antes e após o envase. Existem alternativas para proteção do fármaco ao longo do processo produtivo e devem ser consideradas em fármacos susceptíveis.

A **umidade** é o principal fator de perda de estabilidade dos medicamentos, particularmente pelas reações de hidrólise ou formação de aglomerados. A umidade pode causar reações de hidrólise em alguns fármacos ou excipientes. Isso pode quebrar ligações químicas, produzir produtos de degradação indesejados e reduzir o teor do fármaco. A umidade também pode afetar a uniformidade de dose e a solubilidade de medicamentos sólidos, como comprimidos e cápsulas, prejudicando o produto (UETI, 2018). Por exemplo, os medicamentos com componentes higroscópicos podem absorver a umidade do ambiente, resultando em aglomerados ou mudanças na consistência (SILVA et al., 2009).

De acordo com Allen Jr., Popovich e Ansel (2013) a hidrólise é uma reação química na qual uma molécula de água interage com uma substância, resultando na quebra de uma ligação química (clivagem) e a formação de dois ou mais produtos. Essa reação é uma das principais causas de degradação de fármacos, particularmente aqueles contendo grupos ésteres, amidas, imidas, lactonas, lactamas e carbamatos. A presença de água, mesmo em pequenas quantidades, pode iniciar a hidrólise, comprometendo a estabilidade. Para evitar a hidrólise dos medicamentos, é fundamental controlar a exposição à água. Os métodos eficazes para proteger os medicamentos incluem armazená-los em locais secos, usar dessecantes, usar embalagens herméticas impermeáveis à umidade, trocar excipientes aquosos, bem como preferir formulações sólidas nestes casos de degradação. Além disso, a seleção dos excipientes adequados e o ajuste do pH da formulação para níveis que reduzam a hidrólise ajudam a garantir a estabilidade do medicamento. É conhecido que a hidrólise pode ou não ser favorecida de acordo com o pH do meio. A estratégia mais importante para garantir a segurança e eficácia

dos medicamentos ao longo do tempo é o controle da umidade (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; SOUZA, 2014).

A estabilidade pode ser significativamente alterada por **agentes biológicos**, como enzimas e microbiota. Enzimas presentes em medicamentos ou produzidas por microrganismos podem desencadear reações de degradação, alterando a estrutura química dos fármacos e afetando sua qualidade com o tempo. Além disso, os contaminantes biológicos podem fazer com que outros fatores comprometam a integridade dos medicamentos durante o armazenamento e uso (YOSHIOKA & STELLA, 2000; PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

Fatores intrínsecos

Os elementos intrínsecos que alteram a estabilidade de medicamentos e fármacos são atribuídos às propriedades inerentes à formulação farmacêutica (SOUZA, 2014).

O **polimorfismo cristalino**, ou a capacidade de uma substância existir em diferentes formas cristalinas, pode afetar significativamente a estabilidade dos medicamentos. Cada cristal de um fármaco específico pode ter propriedades físico-químicas diferentes, como solubilidade, ponto de fusão e estabilidade, o que altera diretamente as questões de estabilidade e biodisponibilidade. Existe uma alteração de estabilidade significativa, tanto física quanto química, dependendo de cada cristal do fármaco (forma polimórfica cristalina). A estabilidade do medicamento durante o armazenamento e o uso pode ser diretamente impactada por essas diferenças entre os cristais (SILVA & IHA, 2010), caso sejam alterados ou formados cristais ao longo do prazo de validade. Assim, é importante conhecer, identificar e acompanhar a forma cristalina presente em uma formulação farmacêutica onde o fármaco é sólido.

A **compatibilidade fármaco-excipiente** refere-se à capacidade de um fármaco e um excipiente serem manipulados em conjunto e não terem reações químicas ou físicas. Em outras palavras, é a garantia de que a eficácia, segurança ou estabilidade do medicamento não serão prejudicadas pela combinação do fármaco com o excipiente. A compatibilidade é fundamental para garantir que o medicamento permaneça de qualidade e com desempenho durante o armazenamento e uso (MEIRELLES, 2014; GARCIA, 2022). Atualmente existem várias técnicas para avaliar a compatibilidade fármaco-excipiente e prever possíveis interações antecipadamente. Assim, pode-se trocar o excipiente em casos de incompatibilidade.

A escolha adequada dos materiais de **embalagem** também é crucial para garantir a estabilidade dos medicamentos. O material de embalagem não pode interagir com o

medicamento e deve proteger quanto à possíveis reações que o fármaco seja suscetível, como a fotólise, oxidação e hidrólise. Materiais inadequados podem causar reações de degradação química ou física, que podem fazer com que os produtos farmacêuticos percam sua estabilidade (WHO, 2002). Ao longo do tempo, as embalagens feitas de materiais que liberam substâncias voláteis ou que absorvem umidade podem afetar a integridade dos medicamentos. Como resultado, a escolha de materiais de embalagem inertes é fundamental para garantir a estabilidade do produto durante seu armazenamento e uso (CARARINI, 2016).

CONCLUSÃO

A qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos em todo o mundo dependem da harmonização internacional das diretrizes de estabilidade, promovidas pela ICH e pela WHO. Essas diretrizes fornecem uma estrutura consistente para a realização de estudos de estabilidade, promovendo a confiabilidade dos dados e facilitando o reconhecimento mútuo de resultados entre diferentes jurisdições através da padronização de requisitos. O impacto dessas diretrizes é claramente evidenciado na legislação mundial, com muitos países incorporando as recomendações da ICH e da WHO em suas próprias regulamentações farmacêuticas.

Além disso, as diretrizes de estabilidade são essenciais para o desenvolvimento de novos medicamentos para garantir que os produtos mantenham sua qualidade ao longo do prazo de validade. A adoção rigorosa dessas diretrizes ajuda a proteger a saúde pública porque permite a detecção precoce de problemas de deterioração e a adoção de medidas corretivas antes que os produtos cheguem ao mercado.

A ANVISA tem sido fundamental para a adoção e adaptação das diretrizes internacionais de estabilidade ao mercado nacional. A necessidade de estudos de estabilidade acelerada, que simulam temperaturas e umidade extremas para prever a durabilidade dos medicamentos ao longo do tempo, é um exemplo disso. Esta técnica garante que os medicamentos permaneçam eficazes e seguros mesmo em ambientes adversos, refletindo o compromisso da ANVISA com a qualidade e incentivando os fabricantes a investirem em processos de fabricação e conservação que garantam a longevidade e integridade dos produtos.

Portanto, é evidente que os medicamentos comercializados são seguros, eficazes e de alta qualidade se as diretrizes de estabilidade forem cumpridas pelas indústrias farmacêuticas. Para enfrentar os desafios emergentes na indústria farmacêutica e promover a saúde e o bem-estar global, é necessária colaboração internacional contínua e atualização dessas diretrizes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLEN JR LV, POPOVICH NG, ANSEL HC. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos, 9.ed., São Paulo: Premier, 2013, 716p.
2. AULTON ME, TAYLOR K. Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines, 5th.ed., Imprint: Elsevier, 2018, 1638p.
3. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução Específica (RE) nº 485, de 19 de março de 2002. Aprova a documentação técnica para a realização de estudos de estabilidade de medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, p. 32, 20 de março de 2002. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/res0485_19_03_2002.html. Acesso em 10 de agosto de 2024.
4. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 398, de 12 de novembro de 2004. Determina a publicação do Guia para realização de Estudos de Estabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 12 de novembro de 2004. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0398_12_11_2004.html. Acesso em 10 de agosto de 2024.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. Determina a publicação do Guia para realização de Estudos de Estabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, p. 64., 1 de agosto de 2005. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/res0001_29_07_2005.html. Acesso em 10 de agosto de 2024.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Informe Técnico nº 01, de 15.07. 2008. Esclarecimento sobre o item 2.9 do anexo da Resolução RE nº1 de 29/07/2005, que trata do Guia para realização dos estudos de estabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 de julho de 2008. Acesso em 10 de agosto de 2024.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 50, de 20 de setembro de 2011. Dispõe sobre as condições e procedimentos para a realização de estudos de estabilidade para o registro ou alterações pós-registro de produtos biológicos. Diário Oficial da União, Brasília, 2011. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0050_20_09_2011_rep.html.

Acesso em 10 de agosto de 2024.

8. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 45, de 09 de agosto de 2012. Dispõe sobre a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos. Diário Oficial da União, Brasília, 2012. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0045_09_08_2012.html. Acesso em 10 de agosto de 2024.
9. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 39, de 14 de agosto de 2013. Dispõe sobre os procedimentos administrativos para concessão da Certificação de Boas Práticas de Fabricação e da Certificação de Boas Práticas de Distribuição e/ou Armazenagem. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 de agosto de 2013. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0039_14_08_2013.pdf. Acesso em 10 de agosto de 2024.
10. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 53, de 4 de dezembro de 2015. Dispõe sobre o Guia para a realização de Estudos de Estabilidade de Medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília, 8 de dezembro de 2015. Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3295768/%281%29RDC_53_2015_COMP.pdf/d38f507d-745c-4f6b-a0a6-bd250f2e9892. Acesso em 10 de agosto de 2024.
11. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 318, de 06 de novembro de 2019. Estabelece os critérios para a realização de Estudos de Estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 2019. Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898778/RDC_318_2019_.pdf/72014894-122d-433e-97b0-2c48bfb4ab54. Acesso em 10 de agosto de 2024.
12. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, 6.ed. Brasília: ANVISA, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acesso em 10 de agosto de 2024.
13. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Relatório de atividades 2022. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/Relatrio deatividadesGVIMS2022.pdf>. Acesso em 15 de agosto de 2024.

14. CARARINE AP. Estabilidade de medicamentos: fatores interferentes com destaque em material de embalagem. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização), Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016, 29p.
15. CARSTENSEN JT, RHODES CT. Drug stability: principles and practices, 3.ed., New York: Marcel Dekker, 2000, 792p.
16. CARVALHO JP, SANTOS AS, SÁ AS, TEIXEIRA CS, NOGUEIRA MS. Estabilidade de medicamentos no âmbito farmacológico. *Fármacos & Medicamentos* 34(6): 22-27, 2005.
17. CONSIGLIERE DE MATTA VO, OLIVEIRA AG. Estabilidade e Conservação de Medicamentos. In: HELOU, CIMINO DAFFRE, Farmacotécnica, 2.ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 2021, p.47-64.
18. COSTA GN, VIANA M, LIMA FILHO UF, CABRAL L. Diretrizes para elaboração de um protocolo e relatório de estudo de degradação forçada de medicamentos de acordo com a RDC 53/2015. *Infarma Ciênc Farmac* 30(e.3): 194-202, 2018.
19. DARROW JJ, AVORN J, KESSELHEIM AS. FDA Approval and Regulation of Pharmaceuticals, 1983-2018. *JAMA* 323(2): 164-176, 2020.
20. FACCI J, DINIZ LF, REIS NFA, FERNANDES C. Evolução da legislação e das técnicas analíticas aplicadas a estudos de estabilidade de insumos e produtos farmacêuticos. *Quim Nova* 43(7): 959-973, 2020.
21. FRANKS ME, MACPHERSON GR, FIGG WD. Thalidomide. *Lancet* 363(9423): 1802-1811, 2004.
22. GARCIA NLSA. As técnicas térmicas como ferramenta no estudo de compatibilidade IFA-excipientes: uma revisão. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022, 24p.
23. GUIMARÃES GP. Estabilidade de medicamentos sintéticos: visão geral da nova diretriz da Anvisa. Diadema. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade Federal de São Paulo, Diadema, 2020, 44p.
24. HACKMANN ERM. Teste de estabilidade na indústria farmacêutica. Anais. São Paulo, p.1-65, 1989.
25. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. ICH. Photostability testing of new drug substances and products Q1B, 1996. Disponível em: <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>. Acesso em 15 de agosto de 2024.

26. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. ICH. Guidelines on stability testing for new drug substances and products Q1A(R2), 2003. Disponível em: <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>. Acesso em 15 de agosto de 2024.
27. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. ICH. Impurities in new drug substances Q3A (R2). 2006. Disponível em: <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>. Acesso em 15 de agosto de 2024.
28. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. ICH. Guideline for Elemental Impurities Q3D (R1). 2019. Disponível em: [https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q3DR1EWG_Document_Step4_Guideline_2019_0322%20\(4\).pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q3DR1EWG_Document_Step4_Guideline_2019_0322%20(4).pdf). Acesso em 15 de agosto de 2024.
29. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. ICH. Guideline for Elemental Impurities Q3D (R2). 2022. Disponível em: <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>. Acesso em 15 de agosto de 2024.
30. LACHMAN L, LIEBERMEN HA, KANIG JL. Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica, 1.ed., v.2, Lisboa: Fundação Galouste Guldenkian, 2001, p.509-1517.
31. LEITE, E. G. Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006, 199f.
32. LUIZE TRR, JANZ FL, LEITE HD. Importance of stability study for registry, renewal and post registry changes of drugs. *Saúde em Foco* 8(1): 2, 2016.
33. MEIRELLES LMA. Estabilidade de medicamentos: estado da arte. *REF* 11(4): 6-26, 2014.
34. MINÉ TMF, MORAIS DCM. Revisão das legislações que vigoram sobre a estabilidade dos medicamentos na indústria farmacêutica brasileira. *Cad Est e Pesq* 4: 21-38, 2013.
35. MUNEKATA IR. Ingresso da Anvisa no International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) e seu impacto nas indústrias farmacêuticas brasileiras. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2020, 43p.
36. OLIVEIRA AG. Estabilidade: Importante Parâmetro para Avaliar a Qualidade, Segurança e Eficácia de Fármacos e Medicamentos. *Rev Pharm Bras* 20: 4-8, 2001.
37. OLIVEIRA MA, YOSHIDA MI, GOMES ECL. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Quim Nova* 34(7): 1224-1230, 2011.
38. PINTO TJA, KANEKO TM, OHARA MT. Controle biológico de qualidade de produtos

- farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003, 325p.
39. PLETISKAITZ TMF. Faixa de degradação forçada requerida pela agência nacional de vigilância sanitária para fármacos e as principais técnicas envolvidas na identificação de produtos de degradação. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Análise Instrumental), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2019, 242p.
 40. SILVA G, IHA K. Polimorfismo: caracterização e estudo das propriedades de uma fase cristalina. *JATM* 2(3): 331-338, 2010.
 41. SILVA KER, ALVES LDS, SOARES MFR, PASSOS RCS; FARIA AR, ROLIM NETO PJ. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 30(2): 129-135, 2009.
 42. SOUZA JN. Estudo de estabilidade: fatores que influenciam na estabilidade do medicamento. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização), Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014, 40p.
 43. UETI T. Fatores que afetam a estabilidade dos medicamentos e tipos de estudos aplicados na indústria farmacêutica. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2018, 37p.
 44. UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). 1079 Good storage and shipping practices. United States Pharmacopeia, 2020. Disponível em: http://ftp.uspbpep.com/v29240/usp29nf24s0_c1079.html. Acesso em 10 de agosto de 2024.
 45. WATERMAN KC, ADAMI RC. Accelerated aging: prediction of chemical stability of pharmaceuticals, *Internat J Pharm* 293(1-2): 101-125, 2005.
 46. WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. Annex 9: Guidelines on packaging for pharmaceutical products. In WHO Technical Report Series, n. 902, 2002.
 47. YOSHIOKA S, STELLA VJ. Stability of Drugs and Dosage Forms. New York: Marcel Dekker, 2001, 270p.

**Identificação de fatores de risco para o desenvolvimento de síndrome metabólica
em estudantes de Instituição de Ensino Superior do Espírito Santo**

Identification of risk factors for the development of metabolic syndrome in students at a
Higher Education Institution in Espírito Santo

Luana Barbieri de Souza¹, Vitória Fial do Norte¹, Marco Antônio Andrade de Souza¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde, São Mateus, Espírito Santo, Brasil

Autor para correspondência: Marco Antônio Andrade de Souza
Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências da Saúde
Rodovia Governador Mário Covas, Km 60, s/n, Litorâneo, CEP 29.932-540
São Mateus, Espírito Santo, Brasil
Tel: +55 27 3312-1544
Email: marco.souza@ufes.br

Submetido em 28/10/2024

Aceito em 14/11/2024

DOI: <https://doi.org/10.47456/hb.v5i3.46529>

RESUMO

A Síndrome Metabólica (SM) é um conjunto de alterações que aumentam o risco de doenças cardiovasculares e metabólicas. Segundo alguns estudos, atualmente, a frequência de SM encontrada em estudantes universitários é consideravelmente baixa, entretanto, elevações nos fatores de risco associados à SM têm sido cada vez mais frequentes nesta população. Este estudo investigou a frequência de fatores de risco para SM em estudantes de uma Instituição de Ensino Superior do estado do Espírito Santo, com base em dados antropométricos e bioquímicos. Foi realizada uma pesquisa transversal analítica, que envolveu 57 estudantes de cursos variados, com idades entre 18 e 37 anos. Os dados pessoais e sobre o estilo de vida foram obtidos por um formulário online e a coleta de material biológico foi realizada na própria instituição. Os resultados indicaram que 10,5% dos universitários já possuem o diagnóstico para a síndrome metabólica, sugerindo um percentual ligeiramente elevado. Obteve-se ainda uma alta incidência nas elevações da pressão arterial (33,3%), colesterol total (40,3%) e circunferência abdominal (14%), em conjunto com a diminuição do HDL- colesterol (15,8%), demonstrando a necessidade de ações preventivas para evitar o desenvolvimento de complicações metabólicas e cardiovasculares em uma fase mais avançada da vida, bem como a implantação de medidas que auxiliem no seu diagnóstico precoce. Diante desse cenário, é fundamental a criação de programas que incentivem a prática de atividade física e promovam a adoção de hábitos alimentares saudáveis.

Palavras-chave: estilo de vida; fatores de risco; síndrome metabólica; universitários.

ABSTRACT

Metabolic Syndrome (MS) is a set of changes that increase the risk of cardiovascular and metabolic diseases. According to some studies, the frequency of MS found in university students is currently considerably low, however, increases in risk factors associated with MS have been increasingly frequent in this population. This study investigated the frequency of risk factors for MS in students at a higher education institution in the state of Espírito Santo, based on anthropometric and biochemical data. An analytical cross-sectional research was carried out involving 57 students from a variety of courses, aged between 18 and 37 years old. Personal and lifestyle data were obtained using an online form and biological material was collection at the institution itself. The results indicated that 10.5% of university students had already been diagnosed with metabolic syndrome, suggesting a slightly high percentage. There was also a high incidence of increases in blood pressure (33.3%), total cholesterol (40.3%) and waist circumference (14%), together with a decrease in HDL-cholesterol (15.8%), demonstrating the need for preventive actions to avoid the development of metabolic and cardiovascular complications later in life, as well as the implementation of measures to aid early diagnosis. Given this scenario, it is essential create programs that encourage physical activity and promote the adoption of healthy eating habits.

Keywords: lifestyle; risk factors; metabolic syndrome; university students.

INTRODUÇÃO

A Síndrome Metabólica (SM) é um conjunto de alterações metabólicas e hormonais caracterizada por intolerância à glicose (ou diabetes), hipertensão arterial, dislipidemia e obesidade troncular ou abdominal (ABESO, 2024). O excesso de peso, caracterizado pelo acúmulo da gordura na circunferência abdominal, é critério essencial da síndrome, e uma vez combinado às demais comorbidades, todas relacionadas à resistência à insulina, forma um complexo de fatores de risco que contribuem, de forma independente, para o desenvolvimento de doença cardiovascular por aterosclerose (ABESO, 2019).

Al-Hamad e Raman (2017) relatam que essa síndrome tem sido associada a indivíduos mais velhos, no entanto, tem havido um aumento preocupante nos casos de síndrome metabólica em pessoas jovens, como nos estudantes. Essa tendência está diretamente ligada ao estilo de vida moderno, que muitas vezes inclui alimentação inadequada, falta de atividade física e sedentarismo, como observado por Cluskey e Grobe (2009) ao verificarem que o estilo de vida de um universitário pode ser influenciado por vários fatores, os quais podem impactar a sua saúde ao longo dos anos.

De acordo com a diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes (BRASIL, 2019), a Diabetes Mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico caracterizado por elevadas concentrações de glicose no sangue – hiperglicemia (glicose plasmática de jejum > 126 mg/dl, ou glicose plasmática > 199 mg/dl, 2 horas após uma refeição) – causadas por deficiência de insulina, frequentemente combinada com resistência à insulina. A hiperglicemia ocorre devido a liberação descontrolada de glicose pelo fígado associada a uma redução na captação de glicose pelo músculo esquelético, com redução da síntese de glicogênio. Quando é ultrapassado o limiar para absorção renal de glicose, ocorre perda de glicose pela urina (glicosúria), causando diurese osmótica (poliúria), a qual, por sua vez, provoca desidratação, sede e aumento da ingestão hídrica (polidipsia). A insuficiência de insulina provoca atrofia muscular causada pelo aumento da degradação proteica e da síntese reduzida de proteínas (COSTA FORTI et al., 2017).

A classificação da DM permite o tratamento adequado e a definição de estratégias de rastreamento de comorbidades e complicações crônicas. A Sociedade Brasileira de Diabetes (BRASIL, 2019) recomenda a classificação baseada na etiopatogenia do diabetes, que compreende o diabetes tipo 1 (DM1), o diabetes tipo 2 (DM2), o diabetes gestacional (DMG) e os outros tipos de diabetes. Outras classificações têm sido propostas, incluindo classificação

em subtipos de DM, levando em conta características clínicas como o momento do início do diabetes, a história familiar, a função residual das células beta, os índices de resistência à insulina, o risco de complicações crônicas, o grau de obesidade, a presença de autoanticorpos e eventuais características sindrômicas (RODACKI et al., 2022).

A DM1 é uma doença autoimune, poligênica, decorrente de destruição das células β pancreáticas e causa a total falta de produção de insulina. É mais frequentemente diagnosticada em crianças, adolescentes e, em alguns casos, em adultos jovens, e afeta igualmente homens e mulheres. É dividida em DM tipo 1A e DM tipo 1B, dependendo da presença laboratorial ou ausência de autoanticorpos circulantes. Por outro lado, a DM2 simboliza 90 a 95% de todos os casos de Diabetes Mellitus. Esta patologia possui origem complexa e multifatorial, incluindo componentes genéticos e ambientais. Embora tenha sido relatado aumento de sua incidência em crianças e jovens, o DM2 tende a ter maior incidência em indivíduos a partir dos quarenta anos de idade. É uma doença hereditária ainda pouco compreendida, mas sabe-se que fatores ambientais possuem um papel significativo, como hábitos alimentares inadequados e a falta de atividade física, que favorecem o surgimento da obesidade que também é um fator de risco importante (GABBAY; CESARINI; DIB, 2003).

O desenvolvimento e a perpetuação da hiperglicemia ocorrem concomitantemente com hiperglucagonemia, resistência dos tecidos periféricos à ação da insulina, aumento da produção hepática de glicose, disfunção incretínica, aumento de lipólise e consequente aumento de ácidos graxos livres circulantes, aumento da reabsorção renal de glicose e graus variados de deficiência na síntese e na secreção de insulina pela célula β pancreática. Sua fisiopatologia, diferentemente dos marcadores presentes no DM1, não apresenta indicadores específicos da doença. Em pelo menos 80 a 90% dos casos, associa-se ao excesso de peso e a outros componentes da síndrome metabólica (COSTA FORTI et al., 2017).

De acordo com os dados divulgados pela Federação Internacional de Diabetes em 2021, aproximadamente 537 milhões de adultos (20-79 anos) vivem com diabetes. Destes, quase 1 em cada 2 (240 milhões) adultos que vivem com a doença não são diagnosticados. Suas consequências são desastrosas e já causaram 6,7 milhões de mortes em todo o mundo (IDF, 2021).

A hipertensão arterial é uma condição comum em todo o mundo e afeta uma parcela significativa da população. Estima-se que mais de 1,28 bilhão de pessoas tenham hipertensão arterial em todo o mundo (STRAIN et al., 2024). A elevação da pressão está frequentemente

relacionada à obesidade e geralmente é observada em pessoas que apresentam resistência à insulina. Como resultado, a hipertensão é comumente considerada um dos fatores de risco metabólico (ECKEL et al., 2005; AGUILAR et al., 2015).

Segundo a Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial de 2020, é relatado que 30 a 40% dos portadores de hipertensão arterial sistêmica (HAS) apresentam alterações metabólicas associadas e a presença da elevação da pressão arterial na síndrome metabólica (SM) aumenta o risco cardiovascular global por meio da ativação de mecanismos pró-trombóticos e pró-inflamatórios. Portanto, é crucial investigar a presença de alterações metabólicas da síndrome metabólica e obesidade central em pacientes com HAS (BARROSO et al., 2021).

A obesidade abdominal, também conhecida como obesidade central ou visceral, é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura na região abdominal (ABESO, 2024). Esta condição trata-se de um problema de saúde global que afeta uma parcela significativa da população, haja vista que em 2022, 2,5 bilhões de adultos com 18 anos ou mais estavam acima do peso, incluindo mais de 890 milhões de adultos que viviam com obesidade (WHO, 2024).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no Brasil. Projeções indicam um aumento de até 250% desses eventos até 2040. Embora a manifestação das doenças cardíacas seja mais comum na vida adulta, o processo de aterosclerose tem início na infância. A adoção de um estilo de vida que inclua atividades físicas regulares, controle do estresse, redução do colesterol elevado e uma alimentação saudável pode contribuir para uma redução de até 80% dos óbitos decorrentes dessas doenças (SBC, 2020).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) destaca a importância de adotar medidas de prevenção e intervenção precoce para combater a SM em pessoas jovens. Promover um estilo de vida saudável, que inclua uma dieta equilibrada e a prática regular de atividade física, é fundamental para prevenir e tratar essa condição (OPAS, 2020). Dessa forma, torna-se fundamental que haja discussões a respeito do status de saúde dos jovens, em especial dos estudantes universitários, considerando que suas rotinas, entre aulas, estágios e projetos, os condicionam a fatores de risco ocupacionais que podem levar ao desenvolvimento de Síndrome Metabólica em diferentes níveis. Sendo assim, este trabalho buscou realizar um estudo transversal analítico que tem como objetivo identificar a frequência de fatores de risco para o desenvolvimento de Síndrome Metabólica em estudantes de uma Instituição de Ensino Superior do Espírito Santo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local de estudo

Esta pesquisa foi realizada em uma Instituição de Ensino Superior, localizada no estado do Espírito Santo. Atualmente a instituição possui 16 cursos de graduação, nos turnos diurno e noturno.

Aspectos Éticos

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos do e aprovado sob o número CAAE: 79256224.3.0000.5063.

Método de coleta

O método utilizado foi baseado em um estudo transversal analítico onde a população estudada foi composta por alunos devidamente matriculados nos cursos de graduação, em diferentes períodos de formação, com idade igual ou superior a 18 anos, de ambos os sexos, e dispostos a participar voluntariamente de todas as etapas da pesquisa: levantamento de dados e coleta de material biológico para exames.

Foram considerados como critérios de exclusão: mulheres grávidas, lactantes e estudantes que fizessem uso de alguma medicação que pudesse interferir no metabolismo e conseqüentemente nos resultados da pesquisa, como, por exemplo, em casos já confirmados de diabetes ou hipertensão.

O levantamento e a avaliação de dados pessoais e do estilo de vida dos estudantes foi iniciado no período de agosto de 2024, quando agendou-se uma data para a exposição da pesquisa. A apresentação da proposta de trabalho foi realizada nas salas de aula durante o horário letivo, mediante a autorização do professor responsável, onde foram demonstrados os objetivos da pesquisa, sua importância de estudo, seus riscos à saúde e esclarecidas quaisquer dúvidas que porventura surgissem. Os alunos receberam, individualmente, um “QR code” para preenchimento posterior do formulário online (Formulário da Pesquisa - Google Forms.pdf) para angariar informações pessoais e sobre o estilo de vida (tabagismo, consumo de álcool, prática de atividade física, refeições e sono), bem como atividades extras (trabalho, projeto, iniciação científica e/ou estágio).

A assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi realizada no

primeiro momento, no ambiente virtual, durante a aceitação e o preenchimento do formulário eletrônico.

A região de origem e o estilo de vida dos universitários foram investigados por meio de um formulário online, e as classificações propostas foram determinadas pelos autores.

A cidade de origem foi classificada em: Proveniente de São Mateus, de outras cidades do Espírito Santo, e de outros estados.

Quanto às refeições, foram avaliadas de acordo com a quantidade realizada ao longo do dia e classificadas em: de duas a três refeições, quatro refeições e mais de cinco refeições.

Com relação ao tempo destinado ao sono, os valores utilizados para a classificação foram: de seis a sete horas, de oito a nove horas, mais de nove horas e menos de cinco horas.

Já com relação à prática de atividade física foram classificados como sedentários aqueles que não praticavam nenhuma atividade ou praticavam até três vezes por semana, por um período inferior a 150 minutos por semana (MS, 2021).

Quanto ao consumo do tabaco, foram classificados como não fumantes, fumantes ocasionais (aqueles que não fumavam todos os dias) e fumantes (os que fumavam pelo menos um cigarro por dia).

O consumo de álcool foi analisado de acordo com os seguintes parâmetros: não consomem, consomem ocasionalmente e consomem mais de três vezes na semana.

Na segunda etapa da pesquisa, referente à coleta de material biológico - sangue, os estudantes foram contatados via telefone e/ou e-mail, com no mínimo 72 horas de antecedência, para o agendamento do dia, seguindo as seguintes recomendações para os exames: estar em jejum de no mínimo 12 horas, evitar a ingestão de álcool nos três dias que antecederam a coleta e não praticar atividade física intensa um dia antes do teste.

A avaliação das medidas antropométricas e a coleta de sangue foram realizadas no laboratório de Análises Clínicas da Instituição de Ensino. Inicialmente, foram avaliadas as medidas antropométricas: medida da circunferência abdominal, altura e peso, e aferição da pressão arterial. Em seguida, prosseguiu-se com a coleta dos exames laboratoriais, seguindo as recomendações necessárias para a realização dos exames de glicose, colesterol total, HDL colesterol e triglicerídeos. As dosagens foram realizadas através do método enzimático colorimétrico, utilizando-se dos kits “Glicose Enzimática”, “Triglycerides Liquicolor mono”, “Colesterol HDL Precipitação” e “Cholesterol Liquicolor”, todos da marca In Vitro Diagnóstico Ltda.

Foi utilizado como critério de diagnóstico para SM o *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III), que considera como diagnóstico de SM a presença de pelo menos três critérios: circunferência abdominal >102 cm em homens ou >88 cm em mulheres; glicose ≥ 100 mg/dL; triglicérides ≥ 150 mg/dL; HDL <40 mg/dL em homens ou <50 mg/dL em mulheres; pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg ou diastólica ≥ 85 mmHg; colesterol total >200 mg/dL (NCEP, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Instituição de Ensino Superior analisada são oferecidos 16 cursos de graduação ao longo do ano. Inicialmente, estimou-se a coleta de amostras em 10 alunos, devidamente matriculados, de cada curso, excluindo-se os cursos noturnos, que representam 6 no total. Dos 10 cursos selecionados (Agronomia, Ciências Biológicas, Ciências da Computação, Enfermagem, Engenharia da Computação, Engenharia de Petróleo, Engenharia de Produção, Engenharia Química, Farmácia e Matemática Industrial), foram obtidas, no mínimo, uma amostra de cada curso, totalizando 57 indivíduos, com idades variando entre 18 e 37 anos, dentre eles 31 mulheres e 26 homens, de diferentes períodos de graduação.

Análise do estilo de vida e parâmetros antropométricos

A classificação do Índice de Massa Corporal (IMC) dos universitários foi realizada por meio da divisão do peso pela altura ao quadrado e classificada de acordo com os valores de referência da ABESO, sendo classificados como abaixo do peso (18,5 ou menos), normal (entre 18,6 e 24,9), sobrepeso (entre 25,0 e 29,9), obesidade grau I (entre 30,0 e 34,9) e obesidade grau II (entre 35,0 e 39,9), para ambos os sexos (ABESO, 2024) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição do estilo de vida e dados antropométricos dos estudantes de uma Instituição de Ensino Superior do estado do Espírito Santo.

Variáveis	Nº	Frequência (%)
1. Atividade física		
Ativos	21	36,8
Sedentários	36	63,2
2. Tabagismo		
Fumante	1	1,8
Fumante ocasional	6	10,5
Não fumantes	50	87,7
3. Consumo de álcool		
Não consomem	20	35,1
Consumem ocasionalmente	35	61,4
Mais de três vezes na semana	2	3,5
4. IMC		
Abaixo do peso ($\leq 18,5$)	2	3,5
Normal (18,6- 24,9)	31	54,4
Sobrepeso (25,0-29,9)	16	28
Obesidade Grau I (30,0-34,9)	7	12,3
Obesidade Grau II (35,0-39,9)	1	1,8
5. Atividade extra		
Sim	42	73,7
Não	15	26,3
6. Cidade de Origem		
São Mateus	13	22,8
Outra cidade do ES	23	40,4
Outro estado	21	36,8
7. Refeições diárias		
De 2 a 3 refeições	27	47,4
Quatro refeições	22	38,6
Mais de 5 refeições	8	14
8. Sono		
Menos de 5 horas	3	5,3
De 6 à 7 horas	41	71,9
De 8 à 9 horas	12	21
Mais de 9 horas	1	1,8
Total	57	100,0

Os dados da tabela 1 revelam que grande parte dos estudantes (63,2%) são classificados como sedentários, resultados preocupantes, haja vista que estudos mostram que o sedentarismo em jovens universitários está frequentemente associado a um aumento do risco de desenvolver condições crônicas, como a Síndrome Metabólica (FORD et al., 2005). Esse comportamento é frequentemente atribuído ao estilo de vida dos universitários, que muitas vezes passam longas horas em atividades sedentárias, seja para estudo ou em uso de dispositivos eletrônicos, como observado por Lourenço et al. (2016) que avaliaram a prevalência do comportamento sedentário em 1.085 universitários e constataram que a maior parte deles apresentou maior exposição de tempo para o uso do computador para estudos e lazer, seguidos pelo tempo assistindo TV e usando videogame. A OMS enfatiza que a promoção de um estilo de vida ativo é crucial para a prevenção de doenças não transmissíveis e a melhoria da qualidade de vida (WHO, 2020).

O tabagismo entre os universitários revelou que apenas 1,8% dos participantes se identificavam como fumantes, um dado relativamente baixo quando comparado com os valores para os não fumantes (87,7%). Embora a taxa para os não fumantes apresente bons resultados, o número de fumantes ocasionais (10,5%) é significativo, tendo em vista que a Organização Pan-Americana da Saúde (2020) relata que os fumantes de tabaco têm até duas vezes mais risco de derrame e quatro vezes mais risco de doenças cardíacas.

O consumo de álcool no presente estudo mostrou-se significativo, visto que 61,4% dos estudantes relataram consumo ocasional. Esse valor se assemelha aos achados de Barros, que avaliou o perfil de consumo de bebidas alcoólicas de 124 estudantes de uma universidade brasileira e constatou uma prevalência de 79,8% de consumo de álcool entre eles (BARROS & COSTA, 2019).

Quanto ao IMC, mais da metade dos estudantes (54,4%) está dentro da faixa de peso normal. Entretanto, 28% apresentaram sobrepeso e 14,1% já se encontram em algum grau de obesidade, o que exige atenção especial, tal como observado por Souza et al. (2015) ao verificarem que a SM e seus componentes estão significativamente mais frequentes entre obesos do que em não obesos e suas prevalências notadamente aumentam com a idade.

Cerca de 73,7% dos estudantes afirmaram participar de atividades extras, como estágios, projetos, iniciação científica e/ou algum tipo de atividade remunerada. Deve-se considerar preocupante o resultado obtido, uma vez que Barroso, que avaliou a relação entre a percepção de sobrecarga universitária e a satisfação com cursos de graduação quando analisada

de forma independente ou mediada por sintomas depressivos, solidão e resiliência dos estudantes, identificou uma prevalência importante de sintomas emocionais negativos e queixas de sobrecarga acadêmica entre os participantes. A percepção de sobrecarga acadêmica elevada ou extrema esteve presente em 48,30% dos avaliados e 21,10% dos estudantes tinham nível moderado ou intenso de solidão (BARROSO, 2021).

A distribuição dos universitários quanto à cidade de origem revelou que 40,4% eram de outras cidades do Espírito Santo e 36,8% de outros estados. Esse dado pode ser relevante para compreender diferenças nos hábitos de vida e de saúde dos estudantes, visto que estudos que analisaram o comportamento de comunidade estudantil, que morava sem os pais, associaram a má alimentação à falta de companhia na hora da refeição e que a presença da família influenciava na escolha de alimentos mais saudáveis (FEITOSA et al., 2010).

Com relação à alimentação, verificou-se que 47,4% dos estudantes realizavam de duas a três refeições por dia, 38,6% até quatro refeições e 14% mais de cinco refeições diárias. Um estudo realizado por Souza et al. (2014), analisou estudantes dos cursos de Educação Física e Fisioterapia, e constatou que a maioria dos estudantes realizava de três a quatro refeições ao dia. Os resultados obtidos tornam-se preocupantes quando avaliamos a quantidade de refeições com a qualidade dos alimentos consumidos, haja vista que segundo Bernardo et al. (2017), a maioria dos estudantes universitários apresenta comportamentos alimentares pouco saudáveis, como o elevado consumo de “fast food”, “snacks”, doces, refrigerantes e bebidas alcoólicas, bem como baixo consumo de frutas, legumes, verduras, peixes, cereais integrais e leguminosas.

A maioria dos estudantes (71,9%) relatou ter entre seis e sete horas de sono por noite, 21% entre oito e nove horas, 5,3% menos de cinco horas e 1,8% relataram dormir mais de nove horas por dia. Estudos apontam que o encurtamento do tempo de sono, muito comum nas sociedades modernas, é um fator predisponente para o aparecimento da obesidade (CRISPIM et al., 2007).

Frequência de alteração dos componentes da Síndrome Metabólica

Os resultados experimentais do presente estudo, que investigou a presença de síndrome metabólica através dos parâmetros do estilo de vida e dados antropométricos, juntamente com exames bioquímicos, podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2. Frequência de componentes da Síndrome Metabólica em estudantes de uma Instituição de Ensino Superior do estado do Espírito Santo.

Variáveis	Nº	Frequência (%)
1. Pressão Arterial		
Normal	38	66,7
Elevada	19	33,3
2. Circunferência Abdominal		
Normal	49	86,0
Elevada	8	14,0
3. Glicose		
Normal	55	96,5
Elevada	2	3,5
4. Colesterol Total		
Normal	34	59,7
Elevado	23	40,3
5. HDL-colesterol		
Normal	48	84,2
Diminuído	9	15,8
6. Triglicerídeos		
Normal	55	96,5
Elevados	2	3,5
Total	57	100

Observa-se que 33,3% dos estudantes apresentaram pressão arterial elevada, que é considerado um fator de risco bastante significativo. Tais índices são preocupantes, haja vista que em estudo composto por 168 hipertensos e 93 participantes normotensos identificou-se a presença de síndrome metabólica em 60,7% dos hipertensos e 18,3% dos normotensos e a SM esteve presente em 119 indivíduos, representando uma prevalência global de 45,6% (MARCHI-ALVES et al., 2012).

A circunferência abdominal elevada, no presente estudo, foi observada em 14% dos estudantes. Esses valores são relevantes, pois a gordura visceral está diretamente relacionada à resistência à insulina e ao desenvolvimento de doenças cardíacas (FREITAS, 2014). Por outro lado, em relação à glicemia em jejum, obteve-se um baixo percentual de glicose elevada (3,5%). Entretanto, sua importância de investigação não deve ser desconsiderada, uma vez que de acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (2022) a diabetes triplica o risco de morte por doença cardiovascular, doença renal ou câncer.

Com relação ao colesterol total, 40,3% dos estudantes apresentaram níveis elevados

e 15,8% demonstraram níveis de HDL diminuídos. Quanto aos triglicerídeos, foram identificadas elevações em apenas 3,5% dos participantes, o que sugere, até o momento, que a maioria deles mantém os níveis deste componente sob controle.

Frequência da Síndrome Metabólica

O número de alterações para a análise da frequência da SM, de acordo com os critérios do NCEP ATP III (2001), mostrou que 28,1% dos estudantes não apresentaram nenhuma alteração, 47,4% apresentaram apenas um componente alterado, 14% apresentaram alteração em dois componentes e 7% e 3,5% apresentaram, respectivamente, três e quatro fatores de risco para a Síndrome Metabólica. Além disso, não foi encontrada nenhuma alteração para cinco ou seis componentes (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição das alterações da Síndrome Metabólica entre os universitários de uma Instituição de Ensino Superior do estado do Espírito Santo.

Número de alterações	Nº	Frequência (%)
0	16	28,1
1	27	47,4
2	8	14,0
3	4	7,0
4	2	3,5
5	0	0
6	0	0
Total	57	100

Dos 57 estudantes de 18 a 37 anos, do presente estudo, 10,5% apresentaram três ou mais componentes alterados, o que os coloca diretamente no grupo de diagnóstico da SM.

Um estudo realizado por Silva et al. (2014), com os mesmos critérios de diagnóstico para SM, avaliou 550 universitários de uma instituição pública e verificou que 64,4% apresentaram pelo menos um componente para síndrome metabólica, 11,6% apresentaram dois componentes e 3,5% apresentaram três ou mais componentes alterados. No Irã (RASHID et al., 2012), também em conformidade com o NCEP ATP III, ao avaliar 221 universitários com idades entre 19 e 27 anos, verificou a prevalência de SM de 3,2%.

É notório que os valores obtidos no presente estudo causam preocupação, haja vista que mesmo com uma amostragem menor observa-se o percentual de SM maior que a obtida por

Silva et al. (2014) e Rashid et al. (2012) quando analisados a presença de três ou mais componentes alterados para SM. Os resultados indicam a necessidade de acompanhamento contínuo do grupo de estudo. Além disso, em comparação com a alteração de dois componentes, este estudo apresentou valores maiores aos obtidos por Silva et al. (2014).

Borges Neto e colaboradores, em estudo realizado em uma Instituição de Ensino Pública (IES) da cidade de Divinópolis - MG, determinou a prevalência de SM em 123 universitários, de ambos os gêneros, com idade entre 18 e 22 anos. Dentre os resultados, 67,47% dos estudantes eram sedentários e 54,28% estavam acima do peso. O parâmetro individual mais alterado foi o HDLc (30,9%), enquanto o menos alterado foi a glicemia com 0,81%. A prevalência de SM encontrada foi considerada baixa, perfazendo 0,81% dos participantes, em conformidade com o critério de diagnóstico NCEP ATP III (BORGES NETO et al.,2021).

Embora a maioria dos parâmetros bioquímicos evidenciados no presente estudo tenha se mantido dentro dos valores normais, a elevada frequência de elevações da pressão arterial (33,3%), colesterol total (40,3%) e circunferência abdominal (14%), em conjunto com a diminuição do HDL- colesterol (15,8%), demonstram a necessidade de ações preventivas para evitar o desenvolvimento de complicações metabólicas e cardiovasculares em uma fase mais avançada da vida dos estudantes. Esses achados são preocupantes tendo em vista que a população avaliada é relativamente jovem.

CONCLUSÃO

Os resultados revelam que 10,5% dos universitários possuem o diagnóstico para a síndrome metabólica, sugerindo um percentual ligeiramente elevado em comparação com outros estudos.

A presença de outros fatores de risco como o sedentarismo, dislipidemias e aumento da pressão arterial indicam que cada vez mais jovens caminham para um quadro de SM.

Reforça-se a necessidade de campanhas informativas para conscientização dos estudantes sobre a importância de se prevenir precocemente aos fatores de risco associados à síndrome metabólica, bem como a implantação de medidas que auxiliem no seu diagnóstico.

Diante desse cenário, é fundamental a criação de programas que incentivem a prática de atividade física e promovam a adoção de hábitos alimentares saudáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABESO. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA. O que é Síndrome Metabólica? ABESO, 2019. Disponível em: <https://abeso.org.br/conceitos/obesidade-e-sindrome-metabolica/>. Acesso em 24 de junho de 2023.
2. ABESO. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA. Calculadora de IMC. ABESO, 2024. Disponível em: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/calculadora-imc/>. Acesso em 29 de agosto de 2024.
3. AGUILAR M., BHUKET T, TORRES S, LIU B, WONG RJ. Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA* 313(19): 1973-1974, 2015.
4. AL-HAMAD D, RAMAN V. Metabolic syndrome in children and adolescents. *TP* 6(4): 397-407, 2017.
5. BARROS MSMR, Costa LS. Perfil do consumo de álcool entre estudantes universitários. *SMAD*15(1): 4-13, 2019.
6. BARROSO SM. Sobrecarga e Satisfação com Curso: há Efeito Indireto de Fatores Emocionais dos Universitários? *Aval Psicol* 20(4): 426-434, 2021.
7. BARROSO WKS, RODRIGUES CIS, BORTOLOTTO LA, MOTA-GOMES MA, BRANDÃO AA, FEITOSA ADM, MACHADO CA, POLI-DE-FIGUEIREDO CE, AMODEO C, MION JÚNIOR D, BARBOSA ECD, NOBRE F, GUIMARÃES ICB, VILELA-MARTIN JF, YUGAR-TOLEDO JC, MAGALHÃES MEC, NEVES MFT, JARDIM PCBV, MIRANDA RD, PÓVOA RMS, FUCHS SC, ALESSI A, LUCENA AJG, AVEZUM A, SOUSA ALL, PIO-ABREU A, SPOSITO AC, PIERIN AMG, PAIVA AMG, SPINELLI ACS, NOGUEIRA AR, DINAMARCO N, EIBEL B, FORJAZ CLM, ZANINI CRO, SOUZA CB, SOUZA DSM, NILSON EAF, COSTA EFA, FREITAS EV, DUARTE ER, MUXFELDT ES, LIMA JÚNIOR E, CAMPANA EMG, CESARINO EJ, MARQUES F, ARGENTA F, CONSOLIM-COLOMBO FM, BAPTISTA FS, ALMEIDA FA, BORELLI FAO, FUCHS FD, PLAVNIK FL, SALLES GF, FEITOSA GS, SILVA GV, GUERRA GM, MORENO JÚNIOR H, FINIMUNDI HC, BACK IC, OLIVEIRA FILHO JB, GEMELLI JR, MILL JG, RIBEIRO JM, LOTAIF LAD, COSTA LS, MAGALHÃES LBNC, DRAGER LF, MARTIN LC, SCALA LCN, ALMEIDA MQ, GOWDAK MMG,

- KLEIN MRST, MALACHIAS MVB, KUSCHNIR MCC, PINHEIRO ME, BORBA MHE, MOREIRA FILHO O, PASSARELLI JÚNIOR O, COELHO OR, VITORINO PVO, RIBEIRO JUNIOR RM, ESPORCATTE R, FRANCO R, PEDROSA R, MULINARI RA, PAULA RB, OKAWA RTP, ROSA RF, AMARAL SL, FERREIRA-FILHO SR, KAISER SE, JARDIM TSV, GUIMARÃES V, KOCH VH, OIGMAN W, NADRUZ W. *Arq Bras Cardiol* 116(3): 516-658, 2021.
8. BERNARDO GL, JOMORI MM, FERNANDES AC, PROENÇA RPC. Food intake of university students. *Rev Nutri* 30(6): 847-865, 2017.
 9. BORGES NETO JS, BICALHO JMF, MEIRA HGR, VIEIRA MS, GONÇALVEZ DB, SILVA JA, SANTOS MESM, GRANJEIRO P. Frequência de síndrome metabólica em estudantes de uma universidade pública brasileira. *Res Soc Dev* 10(12): e37101219802, 2021.
 10. BRASIL. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. SBD. Posicionamento Oficial SBD nº 01/2019 - Conduta Terapêutica no Diabetes Tipo 2: Algoritmo SBD. 2019. Disponível em: https://nutritotal.com.br/pro/wp-content/uploads/sites/3/2019/09/algoritmo_sbd_2019_2.pdf. Acesso em 2 de setembro de 2024.
 11. CLUSKEY M, GROBE D. College Weight Gain and Behavior Transitions: male and female differences. *J Am Diet Assoc* 109(2): 325-329, 2009.
 12. COSTA FORTI A, PIRES AC, PITTITO BA, GERCHMAN F, OLIVEIRA JEP, ZAJDENVERG L, KRAKAUER M, FOSS-FREITAS MC, PINTO MS, RADUAN RA, ZAGURY R, VIVOLO SRGF, VENCIO S, LOTTENBERG AS organizadores. Diretrizes: Sociedade Brasileira de Diabetes. 2019-2020. São Paulo: Clannad, 2017, 491p.
 13. CRISPIM CA, ZALCMAN I, DÁTILLO M, PADILHA HG, TUFIK S, MELLO MT. Relação entre sono e obesidade: uma revisão da literatura. *ABE&M* 51(7): 1041-1049, 2007.
 14. ECKEL RH, GRUND, SM, ZIMMET PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 365(9468): 1415-1428, 2005.
 15. FEITOSA EPS, DANTAS CAO, ANDRADE-WHARTA ERS, MARCELLINI OS, MENDES-NETO RS. Hábitos alimentares de estudantes de uma Universidade pública no Nordeste, Brasil. *Alim Nutr* 21(2): 225-230, 2010.
 16. FORD ES, KOHL HW, MOKDAD AH, AJANI UA. Sedentary behavior, physical activity, and the metabolic syndrome among US adults. *Obes Res* 13(3): 608-614, 2005.

17. FREITAS MC, CESCHINI FL, RAMALLO BT. Resistência à insulina associado à obesidade: Efeitos anti-inflamatórios do exercício físico. *Rev bras cienc e mov* 22(3): 139-147, 2014.
18. GABBAY M, CESARINI PR, DIB SA. Diabetes melito do tipo 2 na infância e adolescência: revisão da literatura. *J Pediatr* 79(3): 201-208, 2003.
19. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF. International Diabetes Federation - Facts & Figures. IDF, 2021. Disponível em: <https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/facts-figures.html>. Acesso em 29 de maio de 2024.
20. LOURENÇO C, SOUSA T, FONSECA S, VIRTUOSO JJ, BARBOSA A. Comportamento sedentário em estudantes Universitários. *RBAFS* 21(1): 67-77, 2016.
21. MARCHI-ALVES LM, RIGOTTI AR, NOGUEIRA MS, CESARINO CB, GODOY S. Componentes da síndrome metabólica na hipertensão arterial. *Rev Esc Enferm USP* 46(6): 1349-1354, 2012.
22. MINISTÉRIO DA SAÚDE. MS. Guia de atividade física para a população brasileira. Brasília-DF, 2021. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_atividade_fisica_populacao_brasileira.pdf. Acesso em 11 de setembro de 2024.
23. NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP.) EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. Executive summary of the third report of the expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285(19): 2486-2497, 2001.
24. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. OPAS. 101 razões para parar de fumar - OPAS/OMS. 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/101-razoas-para-parar-fumar-0>. Acesso em 11 de setembro de 2024.
25. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. OPAS. Número de pessoas com diabetes nas Américas mais do que triplica em três décadas, afirma relatório da OPAS - OPAS/OMS. 2022 Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/11-11-2022-numero-pessoas-com-diabetes-nas-americas-mais-do-que-triplica-em-tres-decadas>. Acesso em 11 de setembro de 2024.
26. RASHID AA, PARASTOUEI K, SHAHABODDIN ME. METABOLIC SYNDROME AMONG MEDICAL UNIVERSITY STUDENTS IN KASHAN, IRAN. *Sci Res Essays*

- 7(41): 3549-3553. 2012.
27. RODACKI M, TELES M, GABBAY M, MONTENEGRO R, BERTOLUCI M. Classificação do diabetes. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022). Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/>. Acesso em 20 de julho de 2024.
 28. SILVA ARV, SOUSA LSN, ROCHA TS, CORTZ RMA, MACÊDO LGN, ALMEIDA PS. Prevalência de componentes metabólicos em universitários. *Rev Latino-Am Enfermagem* 22(6): 1041-1047, 2014.
 29. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial - 2020. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 116(3): 516-658, 2021. Disponível em: https://abccardiol.org/wp-content/uploads/articles_xml/0066-782X-abc-116-03-0516/0066-782X-abc-116-03-0516.x27815.pdf. Acesso em 21 de junho de 2023.
 30. SOUZA JV, BASTOS TPF, OLIVEIRA MFA. Perfil dos alunos universitários dos cursos de educação física e fisioterapia em relação à alimentação e a atividade física. *Rev Práxis* 6(11): 104-113, 2014.
 31. SOUZA MDG, VILAR L, ANDRADE CB, ALBUQUERQUE RO, CORDEIRO LHO, CAMPOS JM, FERRAZ AAB. Prevalência de obesidade e síndrome metabólica em frequentadores de um parque. *ABCD* 28: 31-35, 2015.
 32. STRAIN T, FLAXMAN S, GUTHOLD R, SEMENOVA E, COWAN M, RILEY MR, BULL FC, STEVENS GA. Tendências nacionais, regionais e globais de atividade física insuficiente entre adultos de 2000 a 2022: uma análise conjunta de 507 pesquisas populacionais com 5,7 milhões de participantes. *Lancet Glob Health* 12(8): 1232-1243, 2024.
 33. WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. Physical activity. Geneva: World Health Organization, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity>. Acesso em: 3 de setembro de 2024.
 34. WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. Obesity and overweight, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em: 3 de setembro de 2024.