

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DE SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

PEDRO HENRIQUE TEIXEIRA BOTTARO

**POR TRÁS DE UM DIAGNÓSTICO:  
UMA ANÁLISE REFLEXIVA SOBRE OS  
ENSINAMENTOS DO CURSO DE MEDICINA**

SÃO CARLOS -SP  
2025

PEDRO HENRIQUE TEIXEIRA BOTTARO

**POR TRÁS DE UM DIAGNÓSTICO: UMA ANÁLISE REFLEXIVA SOBRE OS  
ENSINAMENTOS DO CURSO DE MEDICINA**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao Departamento de  
Medicina da Universidade Federal de  
São Carlos, para obtenção do título de  
bacharel em medicina.

Orientador: Cristina Helena Bruno

São Carlos-SP  
2025

## FICHA CATALOGRÁFICA

Bottaro, Pedro Henrique Teixeira

Por trás de um diagnóstico: uma análise reflexiva sobre os ensinamentos do Curso de Medicina / Pedro Henrique Teixeira Bottaro -- 2025. 55f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos,  
campus São Carlos, São Carlos Orientador (a): Cristina Helena Bruno Banca

Examinadora: Cristina Helena Bruno

Bibliografia

1. Formação médica. 2. Narrativa Reflexiva. 3. Determinantes sociais. I.  
Bottaro, Pedro Henrique Teixeira. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e de Saúde

- 
- 

### **Folha de aprovação**

Assinatura dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou o Trabalho de Conclusão de Curso do candidato Pedro Henrique Teixeira Bottaro, realizado em 06/10/2025:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristina Helena Bruno  
Universidade Federal de São Carlos

**DEDICATÓRIA**  
Aos meus pacientes.

## **AGRADECIMENTO**

Pela lei natural dos encontros, eu deixo e recebo um tanto. E agradeço:

Aos meus pais, pelo alicerce ao longo da vida;

Ao meu amor, Marina, por alegrar os meus dias e ser minha testemunha e companhia;

Às minhas colegas de prática profissional que durante 4 anos foram minhas companhias diárias: Camila, Isabela, Raquel, Thaís, Carolina e Letícia;

Ao meu grupo de internato por compartilhar as trincheiras: Michel, Adriano, César, Henrique, Lucas, Gustavo e Gabriel;

Aos colegas de república pelas risadas e companhia: Brenno, Guilherme, Iago, Vinícius e Gabriel;

Aos meus mestres do ensino médio pela inspiração: Luciana e Anderson;

Aos meus mestres da graduação, por me estimularem a ser um pouco melhor a cada dia: Ubiratan, Cristina Ortiz, Cristina Bruno, Sigrid, Heloísa, Bianca e tantos outros;

A todos os pacientes que me concederam a oportunidade e a missão de ajudar.

## RESUMO

O presente trabalho estabelece uma reflexão crítica sobre a trajetória formativa em Medicina, a partir da vivência do autor. Tem como objetivo expor os contrastes entre as idealizações iniciais da profissão médica e a realidade prática do exercício clínico. Descreve-se como, ao longo do curso, o estudante é confrontado com o cotidiano da prática médica, que se revela distante do imaginário coletivo de heroísmo e prestígio social. A Medicina é compreendida como uma ação contínua, exigente, técnica e humana, que requer constante atualização, equilíbrio emocional, empatia e capacidade de adaptação. Destaca-se a importância do entendimento do paciente como sujeito singular, cujas experiências de adoecimento transcendem a fisiopatologia e envolvem aspectos sociais, emocionais e contextuais. O texto aborda a vulnerabilidade do sistema de saúde brasileiro, as desigualdades sociais e a determinação social do processo saúde-doença. A vivência acadêmica no período permitiu observar como fatores como moradia, renda e acesso à informação impactam diretamente no adoecimento e no cuidado em saúde. Discute-se também a carência de educação em saúde como um desafio persistente, que dificulta a promoção de hábitos saudáveis e a autonomia do paciente. Enfatiza-se o papel do médico como orientador, acolhedor e agente transformador, mesmo diante das resistências. As experiências extracurriculares em pesquisa básica e análise de dados contribuíram para a formação crítica e científica do autor, fortalecendo a compreensão da Medicina como campo técnico, social e investigativo. Conclui-se que a prática médica deve ser baseada na escuta, na ciência e na responsabilidade ética, sendo um trabalho diário de ação, reflexão e aprimoramento constante.

Palavras-chave: formação médica crítica; determinantes sociais; prática clínica.

## **ABSTRACT**

This work presents a critical reflection on the journey of medical education, based on the author's personal experience. It aims to highlight the contrast between the initial idealizations of the medical profession and the practical realities of clinical work. Throughout the course, the student is faced with the daily routine of medical practice, which proves to be far from the collective imagination of heroism and social prestige. Medicine is understood as a continuous, demanding, technical, and human-centered activity that requires constant learning, emotional balance, empathy, and adaptability. The importance of understanding the patient as a unique individual is emphasized, recognizing that the experience of illness goes beyond pathophysiology and includes social, emotional, and contextual aspects. The text addresses the vulnerability of the Brazilian healthcare system, social inequalities, and the social determinants of the health-disease process. The academic experience during this period allowed the author to observe how factors such as housing, income, and access to information directly impact illness and healthcare. The persistent lack of health education is also discussed as a major challenge, making it difficult to promote healthy habits and patient autonomy. The role of the physician is highlighted as that of a guide, caregiver, and agent of change, even in the face of resistance. Extracurricular experiences in basic research and data analysis contributed to the author's critical and scientific development, reinforcing the understanding of medicine as a technical, social, and investigative field. It is concluded that medical practice must be grounded in listening, science, and ethical responsibility, as a daily task of action, reflection, and constant improvement.

Keywords: critical medical education; social determinants; clinical practice.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>AS INTERMITÊNCIAS DA MEDICINA</b>	<b>10</b>
	<b>ANEXO A - Primeira Iniciação Científica</b>	<b>15</b>
	<b>ANEXO B - Segunda Iniciação Científica</b>	<b>33</b>

## 1 AS INTERMITÊNCIAS DA MEDICINA

É muito comum entrar na faculdade de medicina cheio de sonhos. Na verdade, isso acontece sempre.

É impossível passar em um processo seletivo altamente concorrido e não se encher de esperanças e expectativas. Ainda mais em Medicina, onde o apelo social e familiar ganham protagonismo. Medicina também tem algo de status. Isso, entretanto, é algo que vai se perdendo à medida em que nos deparamos com a realidade dura e percebemos que a luta é bem mais árdua, quase nunca com glamour e você é apenas mais um dentro da equipe. Porém, há, sem dúvidas, uma expectativa familiar e social pela simples manifestação de desejar entrar em uma faculdade de Medicina. Isso nos influencia. Cria em nosso imaginário um modelo de profissão ideal, vida ideal e remuneração ideal, que pode servir de entusiasmo num primeiro momento, mas que torna-se danoso se tomamos isso como verdade inegociável.

Mas a gente vai mesmo assim. Cada um de nós tem suas próprias inspirações e porquês para fazer medicina e entramos na faculdade cada um com seu objetivo. No meu caso, fazer medicina era questão de afinidade. Nunca acreditei no mito da pessoa que salva vidas, do herói, do profissional super inteligente, que sabe de tudo. Sempre tive uma visão objetiva de tratá-la como o trabalho que é e de me sentir bem e realizado fazendo aquilo.

Ouvi certa vez que a medicina não é um sonho, mas um pesadelo, pois nosso meio de trabalho envolve, grande parte das vezes, o pior momento na vida de alguém onde nós, médicos, somos os únicos daquela relação a escolher estar ali, enquanto o outro, o paciente, desejaria tudo, menos precisar de um atendimento. Realmente, a medicina não é um sonho. Pensar assim nos distancia do que de fato ela é, um trabalho. Que não é simples. Demanda ferramentas, técnicas e habilidades afiadas e únicas para lidar com gente, no sentido mais amplo e diversificado possível. Mas é um trabalho. Precisa ser bem feito e sério, posto que o que está na outra ponta é um alguém, em um contexto de vulnerabilidade, precisando de um profissional capacitado.

Mas o termo pesadelo também me parece tão etéreo quanto, apesar de diametralmente opostos. A medicina está entre os dois. Orbita entre extremos sem nunca tocá-los. Oscilando entre momentos de grande êxtase e profunda realização profissional e períodos de luto, pressão, expectativas e angústias. No meio disso tudo tem muito trabalho. Trabalho como conceito físico mesmo, que só existe quando uma energia é dispendida por uma força e provoca um deslocamento. No nosso caso, uma ação concreta.

Então, a medicina é uma ação. Agora sim, concordo plenamente. Precisamos fazê-la a cada dia de enfermaria. A cada exame clínico. Para cada paciente. É uma bicicleta constantemente em movimento da qual você vai cair se parar de pedalar, mas o machucado será o seu paciente. Às vezes, estaremos em um sprint, que pedirá uma bicicleta com aerodinâmica favorável à maior velocidade em menor tempo, num terreno que é mais liso e de menor atrito. Outras, estaremos devagar e sempre. O terreno pode ser irregular e duro, exigindo maior força no guidão e um veículo mais resiliente. De todo modo, nos movimentamos para frente e é fundamental ter objetivos claros, que nos dê a direção adequada em cada caso. Também é imprescindível regular os freios e certificar-se que os pneus estão bem calibrados. Nada adianta o melhor veículo na maior velocidade, se na próxima curva tudo despedaça e você (e o seu paciente) ficam pelo caminho.

Talvez aqui seja o principal ponto: em qual terreno estou? Onde preciso chegar e o que eu vou usar pra isso? Identificar necessidades e fazer escolhas muda a cada paciente. Podemos retomar uma ideia que é discutida desde o começo da faculdade. A de que as doenças são as mesmas, mas os doentes nunca o são. É inviável usar as mesmas estratégias em pacientes diferentes. A gama de variáveis é imensurável e cada momento da assistência pede uma conduta específica, artesanalmente pensada.

Em algum momento, nos deparamos com a diferenciação entre *disease* e *illness* onde, entre outras coisas, a primeira seria o acometimento com sua descrição fisiopatológica e clínica bem estabelecidas. A segunda, uma vivência do indivíduo dentro daquele processo de adoecimento, com suas próprias angústias e perspectivas.

Acho que isso ficou muito evidente entre 2020 e 2023, quando a pandemia expôs nossas incontáveis fragilidades.

Nos deparamos com um país dividido. De um lado, aqueles que se sensibilizaram e compreenderam a gravidade do quadro nunca antes visto por grande parte da população. De outro, houve, evidentemente, aqueles que rejeitaram a realidade e optaram por ignorar o problema grave de saúde mundial. Mas isso tem raízes políticas de um Brasil já fragilizado de alguns anos. No meio disso, as pessoas morreram e outras ficaram gravemente enfermas. E esse período escancarou a realidade de que a saúde é determinada socialmente.

Tivemos mais de 200 milhões de pandemias da COVID-19 diferentes. Cada um de nós a vivenciou à sua maneira, com maior ou menor impacto em determinada seara. Assim, é impossível dizer que a pandemia para um trabalhador assalariado, que precisa sair de casa todos os dias pra ganhar seu dinheiro, foi a mesma para alguém de classe média alta, dona dos meios de produção, que tem alguém para sair de casa por ele e trabalhar para ele. As pessoas simplesmente não tinham escolha: *precisavam* se expor.

Na verdade, as consequências de saúde de causas sociais ocorrem bem debaixo do nosso nariz e é evidenciada dia após dia de prática médica, de diferentes maneiras. Uma mãe que não pode ficar com a filha no hospital porque precisa trabalhar. Um pai que precisa sair de casa e se expor na pandemia para continuar trabalhando do jeito que der, pois um leite na mesa às vezes vale mais do que uma vírus que não se enxerga. Uma população exposta a determinadas doenças porque não têm condições dignas de moradia.

O modo como as pessoas vivem é o modo como morrem e as iniquidades em saúde gritam na nossa cara, no sentido de que muita gente não tem o mínimo de dignidade sanitária e estão largadas à própria sorte.

Não precisamos ir muito longe. Quantas ocupações irregulares, que sequer estão adscritas por uma UBS, existem em São Carlos? As causas que levam essas pessoas a adoecerem transcendem o biológico e tornam o problema mais grave e mais complexo do que se imagina. Só vendo de perto.

Fazer medicina me fez perceber como somos frágeis nesse sentido. Nosso Sistema de Saúde, apesar de inegociável, ainda é um jovem adolescente. Em desenvolvimento. Que precisa de dinheiro e está sujeito aos mandos e desmandos daqueles que o sustentam. Às vezes, cria-se a ideia (falsa!) de que ele não é necessário ou não funciona. Isso nada mais é do que falta de informação. O SUS é de tamanha grandiosidade, que a cogitação de que ele não funciona ou de que não

precisamos dele é mera falta de conhecimento e informação, mero desconhecimento da realidade que nos cerca. Isso nos leva a outro importante ponto aprendido ao longo dessa jornada

Tudo seria otimizado se nós investíssemos em educação em saúde. Isso não é uma tarefa fácil, mas é o principal déficit que pude observar durante a graduação. Os pacientes não têm consciência do que está envolvido no processo saúde-doença como um todo, desde o lugar em que moram e/ou trabalham, passando pelo que comem, como se exercitam e também os seus vícios. Isso gera um ciclo vicioso de velhos hábitos e pensamentos que perpetuam uma fragilidade importante em saúde. Retornam ao hospital várias vezes pelo mesmo motivo e aqueles que ainda não internaram ou tiveram um problema grave de saúde mantêm hábitos que os aproximam cada vez mais de uma maior morbimortalidade. São os que continuam fumando, bebendo, sendo sedentários e comendo mal. Essas pessoas não são instruídas o suficiente e não possuem correta dimensão dos riscos e consequências. Nós entramos aí. Acolher, entender, orientar, prevenir, tratar, confortar são as ações que permearão para sempre a nossa prática. Em muitos momentos, vai ser difícil, pois nós falamos dezenas de vezes e os pacientes não mudam. Mas o nosso esforço é contínuo, enquanto formos médicos. Porque numa dessas você consegue e muda para sempre o futuro daquele paciente (e da família) de maneiras que nem se imaginava antes. O paciente se torna autônomo, consciente e responsabilizado pela própria saúde, no seu conceito mais amplo.

A faculdade também me ensinou a importância de manter-se sempre em movimento e buscando descobertas. Nossa prática deve ser pautada na melhor escolha para o doente, independente de qualquer outra coisa. Olhar para ele e para o arsenal de ferramentas disponíveis e daí fazer a melhor escolha naquele momento, considerando sempre que isso pode mudar na próxima visita de enfermagem.

A ciência é nossa melhor amiga e eu aprendi que nossa cabeça deve ser o mais aberta possível e conhecermos o máximo de cada processo, desde o laboratório, até a clínica, até a análise de dados.

Fui muito feliz em minhas escolhas acadêmicas extracurriculares. No laboratório aprendi ciência de base nua e crua, com barriga na bancada, frustrações e algumas boas horas de dedicação. Falhei muito, mas sinto que foi uma experiência que me moldou como médico, por mais que não tenha sido clínica,

ampliando meu leque de conhecimentos e me ensinando os porquês de muitas ferramentas diagnósticas e terapêuticas.

Logo depois, uma experiência completamente diferente. Mais burocrática, de análise estatística com uma professora fora do normal. Foi onde me debrucei na manipulação de dados, na escrita e na pesquisa de artigos e julgamento de referências. Ambos os projetos me trouxeram frutos importantíssimos que eu colherei para o resto da vida médica. Coloco em anexo os relatórios finais de cada um deles.

Inicia-se aqui uma nova jornada.

**ANEXO A - Primeira Iniciação Científica**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS  
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR

*Pedro Henrique Teixeira Bottaro*

**Processo FAPESP:** 2022/12307-2

**Relatório parcial nº 2**  
(período entre 11/07/2023 e 31/01/2024)

**DIFERENCIAÇÃO DE MACRÓFAGOS POR INFLUÊNCIA DE VESÍCULAS  
EXTRACELULARES HIPÓXICAS DERIVADAS DE CÉLULAS TUMORAIS DE  
MAMA**

***Orientadora:*** Prof. Dra. Heloisa Sobreiro Selistre de Araujo

***Co-orientadora:*** Bianca Cruz Pachane

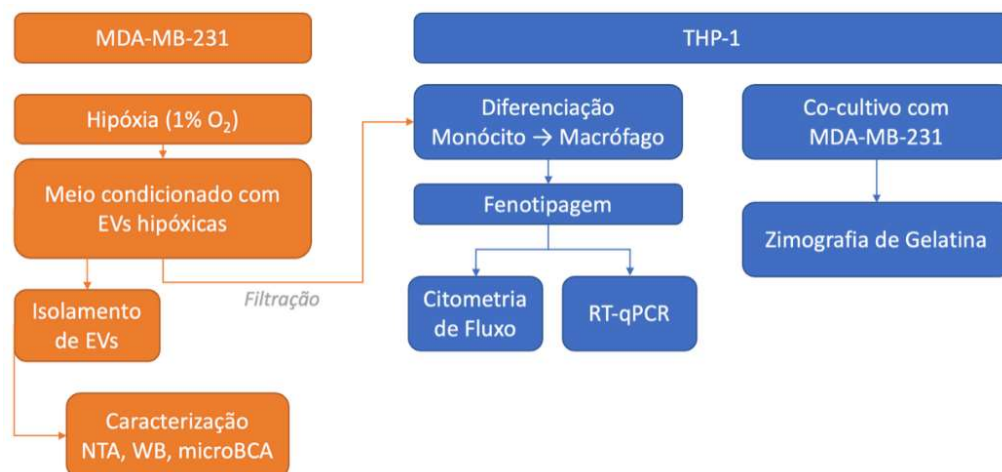
São Carlos, SP - Brasil

10 de fevereiro de 2024

## **1. Resumo do Projeto**

Macrófagos são parte importante do microambiente tumoral que podem atuar em respostas pró- ou anti-tumorais. Seu recrutamento pode ser realizado mediante comunicação de células tumorais por meio de vesículas extracelulares (EVs), que podem incitar a diferenciação de macrófagos associados ao tumor (TAMs). Sendo o câncer de mama triplo negativo uma doença preponderante à população feminina brasileira com alto índice de metástase, o aprofundamento dos conhecimentos básicos sobre esse subtipo de câncer de mama propicia a identificação de novos alvos terapêuticos. Neste projeto, investigamos a diferenciação de macrófagos mediada por vesículas extracelulares de células tumorais de mama em condição de hipóxia. Utilizamos as linhagens de monócito THP-1 e de adenocarcinoma mamário triplo negativo MDA-MB-231, cujo cultivo foi estabelecido com boas práticas de laboratório. Testamos se a diferenciação dos monócitos em macrófagos seria induzida pela adição do meio enriquecido com EVs isoladas das células tumorais cultivadas em hipóxia, com acompanhamento por microscopia óptica em tempo real. Como controle positivo de diferenciação, utilizamos o tratamento com folbol-12-miristato-13-acetato (PMA). A fenotipagem dos macrófagos e monócitos foi realizada por ELISA e RT-qPCR. Estudamos a interação entre as duas linhagens por ensaio de co-cultura e, para identificação de MMPs, realizamos a zimografia do sobrenadante dos ensaios celulares. Esperávamos que houvesse adesão dos monócitos em co-cultura com maior ativação de MMP-9 e diferenciação celular em diferentes subtipos de macrófagos mediada por vesículas extracelulares hipóxicas.

## **2. Plano metodológico proposto**



### 3. Resumo das Atividades Realizadas no Período

Durante o período, padronizamos o cultivo de MDA-MB-231 e THP-1 com boas práticas de laboratório, mediante treinamento em cultura celular e realização constante do ensaio de detecção de *Mycoplasma* por Hoechst. Padronizamos também o protocolo de coleta de meio condicionado de MDA-MB-231 com EVs, que foi realizado primeiramente em normóxia como controle, posteriormente em hipóxia, e subsequentemente resultou na separação completa de EVs hipóxicas do meio condicionado conforme normas internacionais. Os protocolos de diferenciação de macrófagos com PMA (forbol-12-miristato-13-acetato) e com EVh, inéditos em nosso grupo de pesquisa, foram padronizados por microscopia em tempo real e de epifluorescência. O perfil de citocinas inflamatórias foi detectado por ELISA e a fenotipagem dos monócitos e macrófagos foi realizada por RT-qPCR. A co-cultura de THP-1 com MDA-MB-231 permitiu a avaliação da morfologia e perfil de gelatinases por microscopia epifluorescente e zimografia de gelatina. No geral, o trabalho gerou contribuições originais ao estudo de alterações promovidas por EVh em monócitos.

### 4. Resumo dos métodos utilizados

#### 1. Cultivo celular

As linhagens celulares de monócito humano THP-1 (ATCC TIB-202), e de adenocarcinoma mamário triplo-negativo MDA-MB-231 (ATCC CRM-HTB-26), foram cultivadas em estufa a 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>. Células THP-1 (passagens de 6-15) foram mantidas em meio de cultivo RPMI 1640 suplementado com 10% soro fetal bovino (FBS), 1 mM L-glutamina, 1% penicilina/estreptomicina e 2 g/L bicarbonato de sódio. O subcultivo foi

feito mediante coleta da suspensão de células, contagem automática utilizando o corante Trypan Blue 0,4%, seguida da diluição adequada do cultivo a uma concentração de  $1 \times 10^5$  células/mL.

Células MDA-MB-231 (passagens 7-12) foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% FBS, 4,6 g/L glicose, 1 mM L-glutamina, 3,7 g/L bicarbonato de sódio e 10 mM piruvato de sódio. Para subcultivo, o meio de cultivo foi retirado, a garrafa foi lavada com solução salina (PBS) e as células foram brevemente expostas à solução de tripsina-EDTA para desadesão, bloqueadas com meio de cultivo e centrifugadas a 1.200 rpm por 5 minutos. As células decantadas foram ressuspensas em meio de cultivo e contadas automaticamente utilizando o corante Trypan Blue 0,4%.

### 2. Ensaio de detecção de *Mycoplasma*

Células MDA-MB-231 foram plaqueadas em meio de cultivo e incubadas em estufa a 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> por 24 h para adesão. Em seguida, elas foram fixadas com solução metanol:ácido acético (3:1 v/v) em temperatura ambiente, por 10 minutos. A coloração de DNA foi realizada em Hoechst 33258 (0,5 µg/ml) por 30 minutos, no escuro. Após três lavagens em tampão fosfato salino (PBS), as células foram visualizadas em microscópio de fluorescência (Zeiss Vert.A1, software AxioVision Rel4.8) utilizando o filtro DAPI, nos aumentos de 200x e 400x. Células positivas para *Mycoplasma* foram imediatamente retiradas de cultivo e procedimentos de contenção da contaminação foram realizados antes da retomada do cultivo celular.

### 3. Separação de EV-h

O meio de plaqueamento consistiu de DMEM alta glicose contendo 10% de FBS depletado de EVs (UC-FBS), que foi preparado mediante ultracentrifugação do soro a 100,000 por 18h a 4 °C e filtração do sobrenadante em membrana com poro 0,22 µm. Uma solução de células MDA-MB-231 ( $4 \times 10^6$  células) em meio de plaqueamento foi semeada em frascos T150 e incubadas em hipóxia (1% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 37 °C; *H35 Hypoxystation*, Don Whitley) por 24h para adesão. Em seguida, o meio foi trocado por *OptiMEM Reduced Serum Media* (Gibco) e permaneceu por mais 48 h em hipóxia. O meio condicionado foi coletado a 4 °C e submetido à quatro etapas de centrifugação diferencial a 4 °C para coleta de EVs: (1) 200 x g, 5 min, (2) 2.000 x g, 25 min, (3) 10.000 x g, 30 min, e (4) 150.000 x g, 120 min. O *pellet* da última centrifugação foi lavado em PBS, filtrado em membrana 0,22 µm e re-centrifugado a 150,000 x g por 120 min. Após ressuspensão em PBS filtrado, o *pellet*

contendo EV-h foi mantido a 4 °C para uso a curto prazo, e congelado a -20 °C para estoque a longo prazo.

#### 4. Caracterização de EV-h

EV-h foi caracterizada conforme as indicações do MISEV2023 (Welsh et al, aceito). Realizamos análise de rastreamento de nanopartículas (NTA) mediante diluição das amostras (1:1000) e aplicação no equipamento NanoSight NS300 (Malvern Panalytical) para avaliação do tamanho e concentração de partículas. Amostras foram analisadas mediante 3 aquisições de 30 s em condições automáticas. A quantificação de proteínas foi realizada utilizando o kit microBCA (Thermo Fisher Scientific), no qual uma amostra de EV-h foi lisada em 2% SDS e aplicada em microplaca para comparação a uma curva padrão de BSA com valores pré-determinados (0-16 µg/ml). As amostras foram expostas à solução contendo íons  $\text{Cu}^{2+}$  (que reage com proteínas, gerando íons  $\text{Cu}^+$ ) e ácido bicinconínico (BCA), cuja interação com íons  $\text{Cu}^+$  gera reação colorimétrica. Após incubação a 37 °C por 2 h, a placa foi lida no espectrofotômetro SpectraMax i3 (Molecular Devices) sob absorvância de 562 nm.

A presença e ausência de biomarcadores para EVs foi detectada mediante *western blotting*, utilizando um lisado celular como controle. Brevemente, células MDA-MB-231 foram coletadas após 72h de incubação em hipóxia mediante tripsinização e centrifugadas a 1.200 rpm por 5 min. O pellet de células foi lavado com PBS, re-centrifugado e lisado com tampão RIPA por 2 h no gelo, vortexando ocasionalmente. Ao final, o lisado foi centrifugado a 14.000 rpm por 20 min e o sobrenadante foi quantificado por BCA (Thermo Fisher Scientific). O lisado de células (10 µg) e vesículas (10 µl) foi misturado a tampão Laemmli sob condições redutora ou não-redutora e desnaturados a 100 °C por 5 min. Em seguida, foram aplicados a um gel SDS-PAGE contendo gradiente de 4-15% de acrilamida (Bio-Rad), junto de um padrão proteico para controle de corrida (Precision Plus Protein™ Dual-Color, Bio-Rad). Após eletroforese a 100 V por 1,5 h, as proteínas separadas em gel foram transferidas em tampão [Tris 2,5 mM, Glicina 2 M, metanol 20% (v/v); pH 7,6] para membranas de nitrocelulose (0,45 µm, Bio-Rad) por 2 horas a 100 V, 4 °C. Como controle experimental, as membranas foram coradas com Ponceau por 1 minuto e descoradas com água deionizada para fotodocumentação. As membranas foram bloqueadas com leite desnatado (5%) em TBS-T por 1 hora e expostas aos anticorpos primários por 18 horas, em agitação a 4 °C. Foram utilizados: anti-Alix (1:1000, Abcam 186429), anti-Flot1 (1:1000, BD 610820) e anti-GAPDH (1:10000, Abcam 181602). As membranas foram lavadas quatro vezes em TBS-T por 5 minutos e incubadas por 1 hora com os anticorpos secundários Goat

anti-Rb (1:10.000, Abcam 97051) ou Goat anti-Ms (1:10.000, Abcam 97040). Após lavagens em TBS-T, as membranas foram reveladas por quimioluminescência com os substratos Clarity™ Western ECL Substrate (Bio-Rad) e SuperSignal West Femto (Thermo Fisher Scientific) no fotodocumentador ChemiDoc™ XRS+ (Bio-Rad).

#### 5. Padronização da concentração ótima de EV-h para tratamento de THP-1

A suspensão celular de THP-1 foi diluída a  $1 \times 10^5$  células/mL com meio RPMI 1640 10% FBS e semeadas, em triplicata técnica, em uma placa de 96 poços. O tratamento foi realizado mediante aplicação de concentrações crescentes de EV-h ( $1 \times 10^8$  partículas/mL,  $5 \times 10^8$  partículas/mL,  $1 \times 10^9$  partículas/mL,  $5 \times 10^9$  partículas/mL,  $1 \times 10^{10}$  partículas/mL). Foram mantidos controles positivo (i.e., 100 nM PMA) e negativo (i.e., THP-1 não tratada, *mock*) em paralelo. A placa foi incubada a 37 °C a 5% de CO<sub>2</sub> por 7 dias, com rastreamento por microscopia óptica a cada 2 dias a partir do dia 1 (Zeiss Vert.A1, software AxioVision Rel4.8). Ao final dos 7 dias, as células foram fixadas em paraformaldeído 4% por 10 min, lavadas com PBS, permeabilizadas com Triton X-100 0,1% por 5 min e lavadas novamente. Os núcleos celulares foram marcados com DAPI (0.6 ng/μl) e F-actina foi marcada com Phalloidin-488 (2.5%) por 20 minutos, em temperatura ambiente. Imagens em aumento de 10x e 40x foram realizadas em microscópio de epifluorescência ImageXpress Micro XRS (Molecular Devices) para análise de morfologia celular e contagem de núcleos.

#### 6. Diferenciação de monócitos em macrófagos por microscopia timelapse

Células THP-1 foram semeadas na concentração de  $6 \times 10^5$  células/ml em triplicatas técnicas em placas de 6 poços, contendo 3 ml de meio RPMI 10% FBS. Para diferenciação, o meio foi suplementado com 100 nM PMA (forbol-12-miristato-13-acetato) ou  $1 \times 10^{10}$  partículas/ml de EV-h e incubado a 37 °C por 72h. Células não-tratadas (i.e., *mock*) foram mantidas em paralelo. Um poço de cada tratamento foi monitorado em tempo real com o microscópio Lux2 (CytoSMART), com fotos capturadas a cada 60 min por 72 h. O ensaio foi repetido em três ocasiões independentes.

#### 7. Co-cultura direta de MDA-MB-231 e THP-1

Lamínulas de borossilicato (13 mm diâmetro) foram esterilizadas em etanol 70% e cobertas com poli-D-lisina (PDL, 0.1 mg/ml) por 20 minutos em temperatura ambiente. O excesso de *coating* foi lavado com PBS e realizou-se *cross-link* com glutaraldeído 0.5% gelado por 15 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz. Em seguida, as lamínulas

foram incubadas com solução de Matrigel (1:1, v/v) por 16 horas a 4 °C, acondicionadas em placas de 24 poços e embebidas em DMEM alta glicose 10% FBS por 30 min a 37 °C. Células MDA-MB-231 foram plaqueadas em concentração  $5 \times 10^4$  células/ml acima das lamínulas e incubadas por 24 h a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> para adesão. Células THP-1 foram coradas com Cell Trace CFSE (C34554, Invitrogen) conforme instruções do fabricante e foram expostas ( $1 \times 10^5$  células/ml) à cultura aderida de MDA-MB-231 por 2 h a 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>. Em grupos tratados com EV-h,  $1 \times 10^{10}$  partículas/ml foram adicionadas aos poços. Controles individuais das células, com e sem tratamento de EVh, foram mantidos em paralelo. O experimento foi realizado com duplicatas técnicas. Ao final, o meio condicionado foi coletado para zimografia, e as células aderidas foram fixadas com paraformaldeído 4% por 10 minutos, permeabilizadas com Triton X-100 0,1% por 5 min e bloqueadas com BSA-PBS 1% por 1 h a 4 °C. As células foram expostas à solução de anti-tubulina (5 µg/ml, Abcam 80779) por 16h a 4 °C, lavadas e incubadas com anticorpo secundário (Goat Anti-Mouse IgG H&L, AlexaFluor® 647; 1:1.000, Abcam 150115) por 1h a 4 °C. Após lavagens, as lamínulas foram montadas em lâminas com *Prolong Diamond Antifade Mounting Medium with DAPI* (Invitrogen), seladas e analisadas por microscopia de epifluorescência (ImageXpress Micro XRS, Molecular Devices). Foram adquiridas 16 imagens centrais de cada amostra, utilizando os canais DAPI, FITC e Cy5. A análise da morfologia celular de pelo menos 50 células por grupo foi realizada no software FIJI, com *threshold* constante entre os grupos avaliados. O ensaio foi repetido em duas ocasiões diferentes.

#### 8. Zimografia de gelatina

Sobrenadantes do ensaio de co-cultura foram quantificados por método BCA. Amostras contendo 10 µg de proteínas foram misturadas a 10% de inibidor de protease e 50% de tampão de amostra não-redutor, e aplicados em gel SDS-PAGE acrescido com gelatina (100 µg/ml). A separação das proteínas ocorreu por eletroforese a 4 °C, 100 V. Os géis foram lavados por 40 min em Triton X-100 (2,5%) em temperatura ambiente e depois incubados em tampão de renaturação por 20 h a 37 °C (20 mM Tris, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 µM ZnCl<sub>2</sub>, pH 8,0). Géis foram corados com Coomassie Brilliant Blue por 24h e descorados para revelação de bandas degradadas. Os resultados foram fotodocumentados no sistema ChemiDoc (Bio-Rad) e avaliados por densitometria utilizando o software FIJI (ImageJ).

#### 9. Extração de RNA e RT-qPCR

O fenótipo das células do ensaio de diferenciação de monócitos em macrófagos (item 4.6) foi avaliado por RT-qPCR. Após 72h de incubação, as placas foram centrifugadas a 200 g por 5 min a 4 °C e o meio foi coletado para ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA, item 4.10). As células decantadas foram coletadas em TRIZol (Invitrogen) por raspagem mecânica no gelo, e imediatamente congeladas a -80 °C. Para extração de RNA, clorofórmio foi adicionado aos tubos e misturado, passando 15 minutos em temperatura ambiente. As amostras foram centrifugadas a 12.000 rpm por 15 minutos a 4 °C para separação trifásica. A fase superior translúcida foi coletada em novos tubos, para precipitação do RNA com isopropanol (10 minutos, RT), seguida de centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos, 4 °C. O decantado foi lavado com etanol 75% duas vezes e seco em estufa a 37 °C e ressuscitado em água ultrapura para quantificação no sistema Synergy H1 (Biotek). Amostras foram tratadas com DNase I (Invitrogen) e submetidas à transcrição reversa com kit *High Capacity* (Applied Biosystems) seguindo as instruções do fabricante. Primers foram adquiridos (Sigma-Aldrich) conforme os dados abaixo:

Gene	RefSeq	Sequência Senso (5'-3')	Sequência Anti-senso (3'-5')
ITGAM	NM_000632	GGGGTCTCCACTAAATATCTC	CGACCTGATATTGATGCTG
FCGR1A	NM_000566	TCCTTTGGGTTCCAGTTG	TGAGAAACCACTTGTAGAG
CD86	NM_176892	CCTTCTATAGGAACCAAC	GGCTTCATCAGATCTTTCAG
CD68	NM_001040059	GTACTGAACCCCAACAAAAC	ATTAGCTCAGGTAGACAAC
CD163	NM_004244	ATGAGTCCCATCTTTCACTC	CTATTCCCAGTGAGAGTTAC
HLA-A	NM_001242758	GAAGAGCTCAGATAGAAAAGG	CTTTGCAGAAACAAAGTCAG
GAPDH	NM_002046.7	ACAGTTGCCATGTAGACC	TTGAGCACAGGGTACTTTA

Após padronização das condições de temperatura e diluição para a amostra de interesse, corridas de qPCR foram realizadas utilizando a enzima *SsoFast EvaGreen supermix* (Bio-Rad), observando os valores de Cq (*quantification cycle*), conforme a equação em que a variação da expressão gênica é igual a  $2^{-\Delta\Delta Cq}$  (Livak; Schmittgen, 2001). A corrida de qPCR foi realizada utilizando o sistema QuantStudio (Applied Biosystems) e os dados foram tratados com o programa *Design and Analysis 2* (Applied Biosystems).

#### 10. Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA)

A dosagem das citocinas IL-6, IL-10 E TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  (OptEIA, BD Biosciences: IL-6 - cat: 555220; IL-10 - cat: 555157; TNF- $\alpha$  - cat: 555212; IL-1 $\beta$ - cat: 557953) foi

realizada utilizando ELISA direto. Microplacas de alta afinidade foram sensibilizadas com anticorpos monoclonais anti-citocinas *overnight*. As placas foram lavadas 3 vezes (0,05% Tween 20-PBS) e incubadas em solução bloqueadora (4% FBS-PBS) por 1h, em temperatura ambiente. Os poços foram novamente lavados para adição das amostras e de curva padrão de citocinas recombinantes, que foram incubadas por 2h em temperatura ambiente e lavadas em seguida. Anticorpos anti-citocinas conjugados com peroxidase foram adicionados às amostras e permaneceram por 1,5 h em temperatura ambiente, sendo, em seguida, lavadas 5 vezes. Adicionamos 100 µl de solução reveladora contendo 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) e a reação foi bloqueada com ácido sulfúrico para leitura em espectrofotômetro (OD<sub>450nm</sub>, SpectraMax i3, Molecular Devices). As concentrações das amostras foram calculadas a partir da curva de titulação dos padrões de citocinas e as concentrações finais expressas em pg/ml.

### *11. Análise estatística*

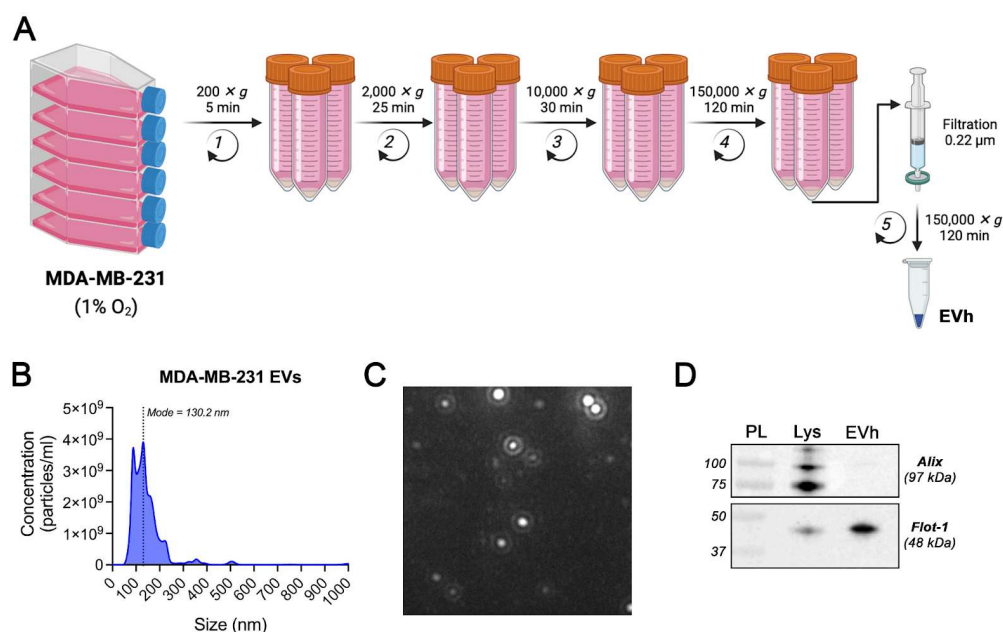
Dados foram submetidos a análise estatística utilizando o programa GraphPad Prism (v. 10.1.1). Os valores brutos foram verificados para *outliers* utilizando o método ROUT, considerando  $Q = 0.01$ . Utilizamos o teste de normalidade de Shapiro-Wilk para determinação da distribuição dos dados. Dados paramétricos foram submetidos ao teste *t* não-pareado ( $n = 2$ ) ou ANOVA *one-way* com pós-teste de Tukey ( $n \geq 3$ ), e estão dispostos em gráficos como média  $\pm$  desvio padrão. Dados não-paramétricos foram avaliados pela análise de variância de Kruskal-Wallis ( $n \geq 3$ ), e foram dispostos em gráficos como mediana  $\pm$  interquartil.

## **5. Resultados**

### *1. Isolamento e caracterização de EVh*

Células MDA-MB-231 livres de micoplasma e cultivadas em hipóxia atingiram a concentração média de  $1.696 \times 10^6$  células/T150 com 93,3% de viabilidade média quando o meio de cultivo foi coletado, conforme o desenho experimental descrito na Fig. 1A. Ao final do processo, o pellet resultante da ultracentrifugação de  $150.000 \times g$  foi filtrado e lavado em PBS para caracterização conforme as normativas do MISEV2018 (Théry *et al.*, 2018). A análise de rastreamento de nanopartículas indicou que EVh apresenta diâmetro modal de  $130,2 \pm 78,7$  nm, o que corresponde com o tamanho esperado para partículas isoladas com essa metodologia (Fig. 1B). A concentração da amostra foi de  $3,69E+11$  partículas/ml,

evidenciada pela densidade de partículas disposta na Fig. 1C. Por *western blotting*, foi verificada a ausência do marcador ALIX e a presença do marcador flotilina-1, indicando o perfil básico de composição proteica da amostra (Fig. 1D). Outros marcadores foram testados, incluindo CD63, CD9, calnexina e GAPDH, entretanto não foi obtido sinal satisfatório devido a problemas com os anticorpos primários, e o procedimento será repetido posteriormente.

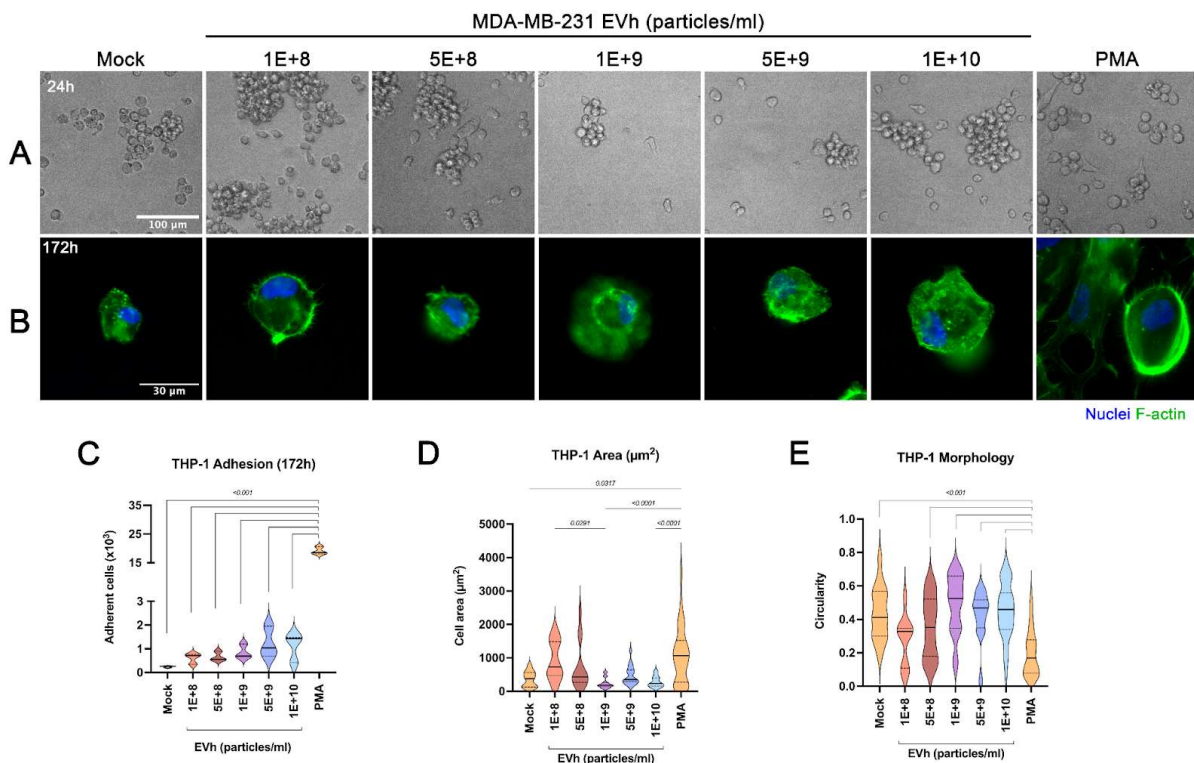


**Fig. 1 - Caracterização de EVh.** (A) Diagrama experimental do processo de isolamento de EVh; (B) Dispersão de tamanho de EVh derivada de MDA-MB-231, demonstrada como o diâmetro das partículas pela concentração, com o valor do diâmetro modal indicado em 130,2 nm; (C) Imagem do rastreamento de nanopartículas indicando a densidade de análise de EVh no equipamento NanoSight NS300; (D) Membranas de *western blotting* contendo amostra de lisado celular (Lys) e EVh, marcada para as proteínas Alix e flotilina-1. Um padrão de proteínas (PL) foi utilizado como controle de corrida e os pesos moleculares estão dispostos em kDa.

## 2. Padronização da concentração de tratamento de THP-1 com EVh

Para a realização dos experimentos propostos, a concentração mais adequada para tratamento com EVh teve de ser padronizada. Para isso, realizamos um rastreio por 7 dias de cinco concentrações de EVh (1E+8 a 1E+10 partículas/ml), mantendo um controle não-tratado (mock) e um controle positivo (PMA) em paralelo. A inspeção visual das células foi realizada a cada 2 dias, iniciando-se 24h após o início do tratamento, por microscopia em campo claro e, após o dia 7 de padronização, as células aderidas foram fixadas e marcadas com DAPI e faloidina para análise em microscopia de epifluorescência.

Após 24 horas de tratamento, foi possível visualizar o início da diferenciação de células tratadas com PMA, enquanto que a maioria das células dos outros grupos permaneceu suspensa e indiferenciada (Fig. 2A). Com o decorrer do tempo, células tratadas com EVh, em todas as concentrações, passaram a aderir na placa com fenótipo distinto do observado no controle PMA. As células aderidas foram submetidas à análise fluorescente, onde se evidenciou fenótipos variados em cada grupo (Fig. 2B). Das concentrações utilizadas, a solução mais concentrada (EVh 1E+10 partículas/ml) propiciou morfologia mais semelhante ao controle PMA, com núcleo bem definido, citoesqueleto organizado e projeções de membrana sugerindo um fenótipo de macrófago, e foi utilizada nos ensaios subsequentes. A validação do experimento ocorreu mediante contagem de núcleos das células aderidas, onde observou-se uma tendência não-significativa de aumento da adesão de THP-1 em comparação ao controle *mock* (Fig. 2C), e mediante quantificação da morfologia das células aderidas, no qual os perfis de área citoplasmática e circularidade celular foram avaliados. (Fig. 2D-E).



**Fig. 2 - Otimização da concentração de tratamento de THP-1 com EVh.** (A) Imagens de microscopia de campo claro indicando a morfologia celular após 24 horas de tratamento com PBS (Mock), EVh de MDA-MB-231 em cinco concentrações, e PMA. Barra de escala: 100  $\mu\text{m}$ . (B) Imagens de microscopia de epifluorescência contendo células THP-1 coradas com DAPI (núcleo, azul) e faloidina (F-actina, verde) após 7 dias (172h) de tratamento com EVh ou PMA. Barra de escala: 30  $\mu\text{m}$ . (C) Contagem de células aderidas após 7

dias de tratamento.  $p < 0.001$ . (D) Área celular quantificada a partir da marcação do citoesqueleto de F-actina. Valores de  $p$  com relevância estatística ( $p < 0.05$ ) indicados no gráfico. (E) Análise de circularidade celular para comparativo de morfologia.  $p < 0.001$ .

### 3. Monitoramento da diferenciação de macrófagos por microscopia em tempo real

A aplicação de PMA em culturas de monócitos THP-1 ativa vias de diferenciação celular compatíveis com o fenótipo de macrófagos, favorecendo a expressão dos marcadores CD14 e CD11b (Lund *et al.*, 2016). A padronização da diferenciação de monócitos em macrófagos foi realizada com sucesso, utilizando a concentração de PMA a 100 nM. Por meio de microscopia ótica em tempo real, verificamos que as células assumem fenótipo aderido ao fundo da placa após 24h de tratamento, aumentando sua área citoplasmática, e ao final de 72h foi observada adesão completa. Em comparação, o controle não tratado permanece com o mesmo fenótipo por todo o experimento (Fig. 3A-C).

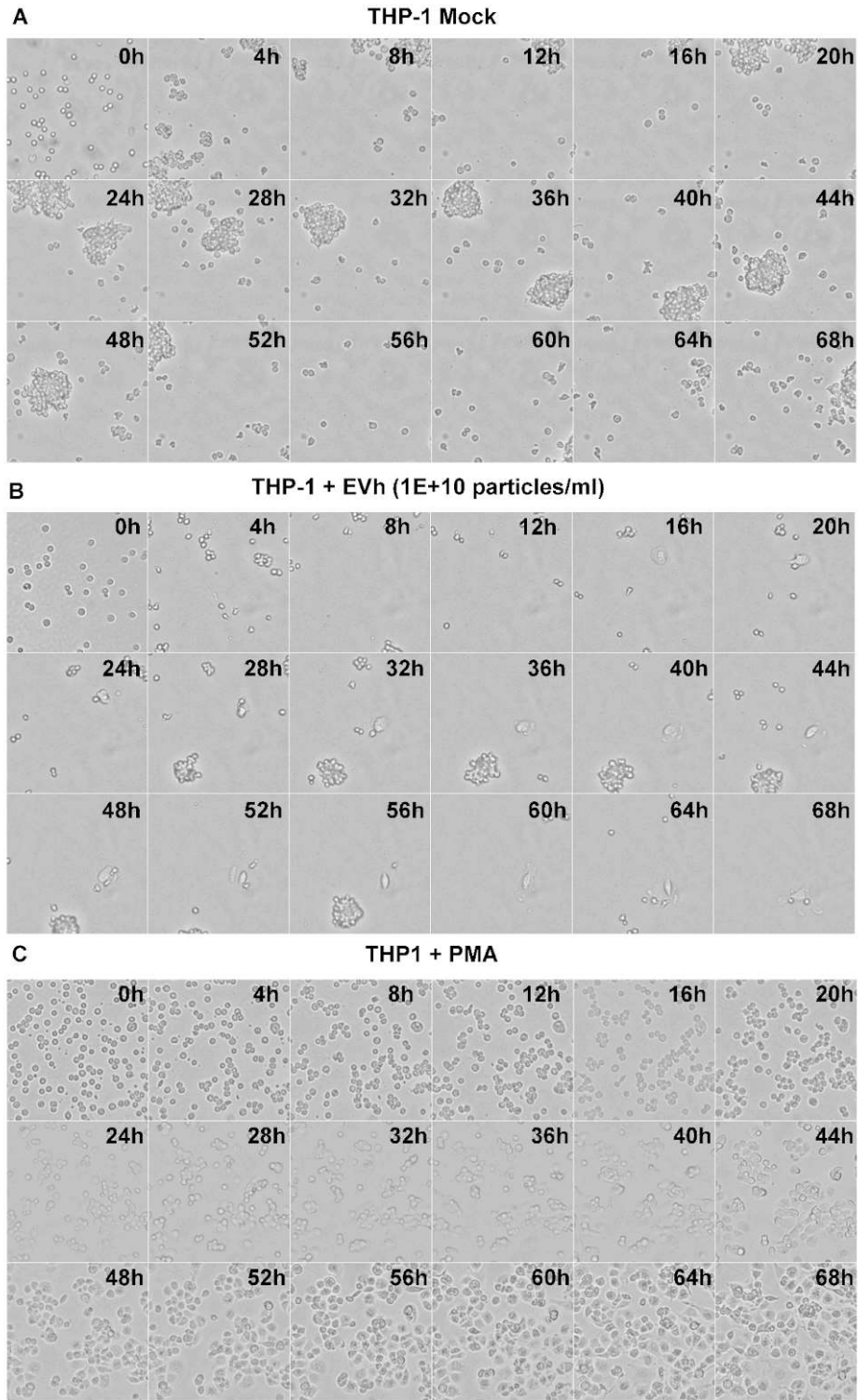
Baseado nisso, investigamos o perfil de diferenciação dos monócitos THP-1 tratados com vesículas extracelulares hipóxicas derivadas da linhagem MDA-MB-231 a  $1E+10$  partículas/ml, seguindo os mesmos parâmetros experimentais. Percebemos, pela fotodocumentação por *timelapse*, que há indícios de diferenciação em uma pequena parcela de células após 16 horas de tratamento, evidenciadas pela mudança do comportamento de motilidade celular (Fig. 3B). O fenótipo observado, entretanto, diverge do documentado no controle PMA, sugerindo mecanismos diferentes de diferenciação em cada grupo.

### 4. Avaliação do perfil de citocinas inflamatórias após diferenciação

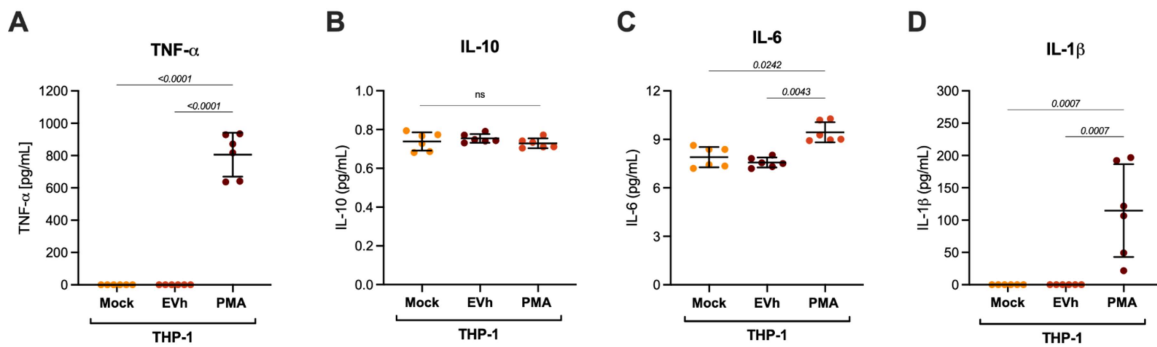
Devido a restrições experimentais, a fenotipagem das células diferenciadas foi abordada por métodos alternativos ao proposto no projeto inicial. A determinação do perfil de citocinas inflamatórias secretadas pelas células após tratamento com EVh ou PMA foi determinada por ELISA, para caracterizarmos, de forma indireta, as células de cada grupo e suas possíveis vias favorecidas. Foram testadas as citocinas IL-10, IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , as quais estão envolvidas, direta ou indiretamente, na resposta tumoral (Kartikasari *et al.*, 2021). O perfil de TNF- $\alpha$  foi observado apenas no grupo PMA (Fig. 4A), e a secreção de IL-10 foi constante nos três grupos testados (Fig. 4B). Verificamos uma tendência de diminuição na secreção de IL-6 no grupo EVh (Fig. 4C), e IL-1 $\beta$  foi aumentada apenas no grupo PMA (Fig.

4D). O perfil exibido no grupo PMA, com secreção aumentada de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , sugere que o fenótipo M1 esteja sendo favorecido (Jayasingam *et al.*, 2020).

IL-6 é uma das principais moléculas no microambiente tumoral e sua superexpressão está intimamente relacionada com o desenvolvimento de diversos tipos de tumores (Kumari *et al.*, 2016). Ela está implicada na regulação de reagentes inflamatórios de fase aguda, na modulação de linfócitos T e B e, conseqüentemente, na fisiopatologia de doenças inflamatórias e neoplasias (Simpson *et al.*, 1997), sugerindo um possível direcionamento na diferenciação celular. Sua sutil redução mediada por EVh implica uma resposta anti-tumoral e sugere a formação de macrófagos M2 (Yeh *et al.*, 2016).



**Fig. 3 - Monitoramento em tempo real da diferenciação de THP-1.** Células THP-1 avaliadas com o sistema Lux2 (Cytosmart), em aumento de 10x. Fotografias de microscopia de campo claro foram adquiridas a cada 1 hora por 3 dias com células incubadas a 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, considerando os grupos: (A) THP-1 controle (mock), (B) THP-1 tratada com EVh (1E+10 partículas/ml), e (C) THP-1 tratada com PMA.

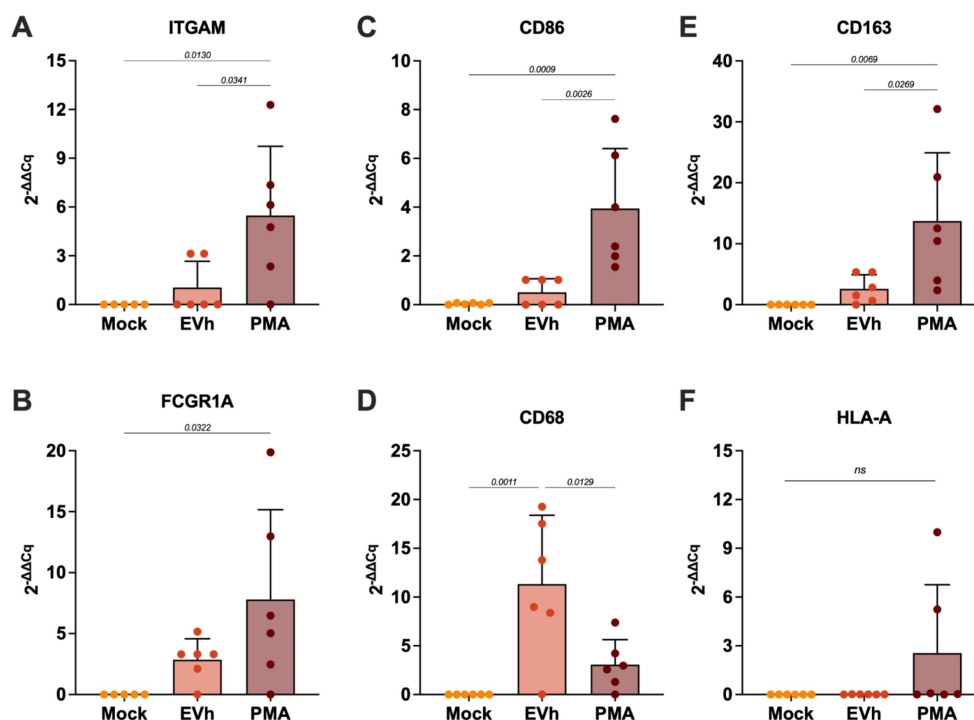


**Fig. 4 - Perfil de citocinas secretadas por THP-1 após diferenciação.** Sobrenadante do cultivo de THP-1 controle (Mock), tratado com EVh (1E+10 partículas/ml) ou PMA (100 nM), coletado após 72 h e analisado por ELISA para a quantificação de: (A) TNF- $\alpha$ , (B) IL-10, (C) IL-6, e (D) IL-1 $\beta$ . Valores de  $p$  considerados estatisticamente relevantes ( $p < 0.05$ ) dispostos nos gráficos.

### 5. Expressão gênica de marcadores para diferenciação de monócitos e macrófagos

A diferenciação fenotípica de monócitos em macrófagos ocorre como consequência de alterações na expressão gênica, moduladas por sinais externos variados. Visando obter um perfil de marcadores associados a cada grupo, realizamos a técnica de RT-qPCR para investigar a expressão de seis marcadores - CD86, CD68, CD163, ITGAM, FCGR1A e HLA-A. Ressaltamos que os resultados obtidos para este relatório estão incompletos e serão repetidos para publicação, visto que tivemos sérios problemas na entrega dos primers pela empresa contratada, o que prejudicou o cronograma de padronização e gerou resultados com qualidade aquém ao esperado.

Nossos resultados prévios identificaram aumento significativo na expressão de ITGAM (Fig. 5A), FCGR1A (Fig. 5B), CD86 (Fig. 5C) e CD163 (Fig. 5E) em THP-1 diferenciada com PMA, mas não de CD68 (Fig. 5D) ou HLA-A (Fig. 5F). Surpreendentemente, vimos aumento significativo de CD68 em EVh, marcador considerado pan-macrofágico e que está superexpresso em macrófagos associados ao tumor (Jayasingam *et al.*, 2020; Röszer, 2015). Referente ao perfil de THP-1 + PMA, o *pool* de marcadores observado indica que esses macrófagos podem apresentar ambos os fenótipos M1 (TNF- $\alpha^+$ ; IL-6 $^+$ ) e M2 (CD163 $^+$ ; CD86 $^+$ ) (Jayasingam *et al.*, 2020; Röszer, 2015).



**Fig. 5 - Expressão gênica de marcadores macrofágicos em THP-1.** Expressão dos genes (A) ITGAM, (B) FCGR1A, (C) CD86, (D) CD68, (E) CD163, e (F) HLA-A, em células THP-1 tratadas com PBS (mock), EVh (1E+10 partículas/ml) ou PMA (100 nM). Comparações estatisticamente relevantes ( $p < 0.05$ ) estão evidenciadas nos gráficos.

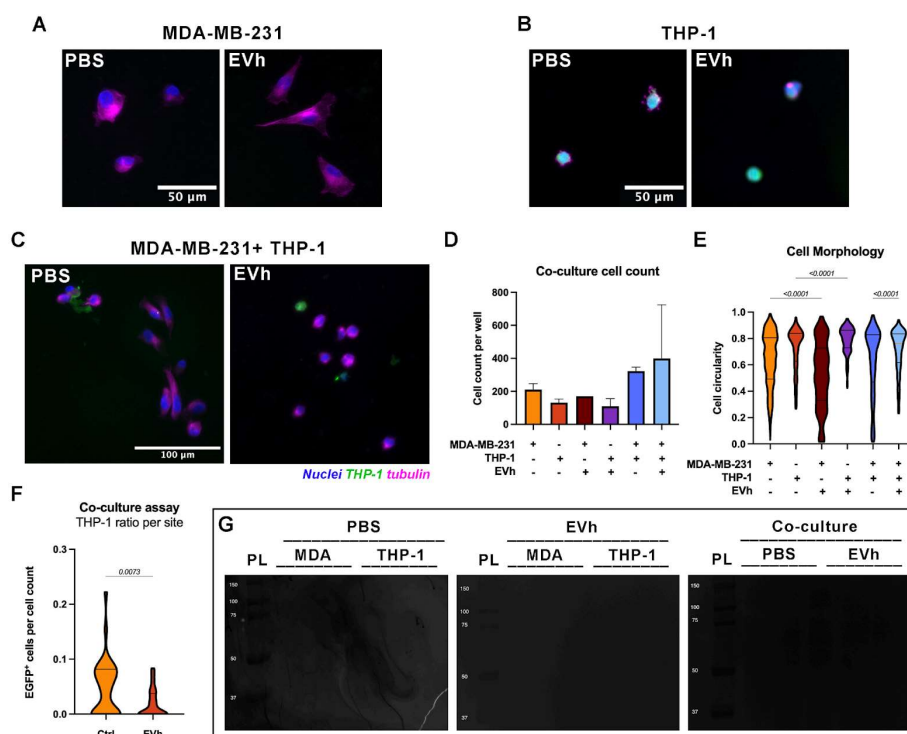
#### 6. Co-cultivo de monócitos com células tumorais em presença de EVh

A fim de verificar se a resposta de THP-1 à EVh é estabelecida mesmo em presença de sua célula originária, MDA-MB-231, realizamos o ensaio de co-cultura direta em lamínula contendo matriz comercial. Para tal, realizamos os controles individuais de MDA-MB-231, com e sem tratamento de EVh (Fig. 6A), e de THP-1, com e sem tratamento (Fig. 6B). Considerando que o citoplasma de todas as células foi marcado ao final do experimento com anti-tubulina, a distinção de células THP-1 com o corante Cell Trace CFSE foi essencial para a realização da co-cultura direta (Fig. 6C).

Como controle, realizamos a contagem de núcleos de uma amostra central dos poços, observando uma leve redução no número de células isoladas aderidas após tratamento com EVh, sugerindo redução na viabilidade (Fig. 6D). Testes futuros irão avaliar se EVh é tóxica para células THP-1, entretanto resultados anteriores confirmaram que EVh não interfere na viabilidade de células MDA-MB-231 (Pachane *et al.*, 2022). Em co-cultura, não houve tendência de redução do número de células em ambos os grupos.

EVh promove alterações morfológicas importantes em células isoladas e em co-cultura (Fig. 6E). MDA-MB-231 apresenta redução na circularidade, promovendo um fenótipo invasivo conforme previamente descrito (Pachane *et al.*, 2022). A morfologia de THP-1 torna-se mais circular com EVh, assim como em co-cultura, onde observamos células com fenótipo mais estressado. Ao compararmos a proporção de células THP-1 em co-cultura, vemos também que há uma redução relevante de monócitos aderidos em relação ao controle (Fig. 6F). Isso indica possivelmente uma redução no início da diferenciação de macrófagos, ou aumento de morte celular dos monócitos. Estudos futuros irão investigar tal resposta.

O sobrenadante dos ensaios foram submetidos à zimografia em gelatina para investigação da atividade de gelatinases, MMP-2 e MMP-9 (Vandooren *et al.*, 2013). A inspeção visual dos géis não indicou a presença de bandas descoradas do fundo azul, sugerindo ausência de atividade enzimática (Fig. 6G). Visto que a secreção de metaloproteínas de matriz (MMP) é realizada por macrófagos em condições tumorais (Elkington; Green; Friedland, 2009), sugerimos que a ausência de atividade proteolítica é resultado do pequeno tempo de incubação do experimento.



**Fig. 6 - Co-cultura de MDA-MB-231 e THP-1.** (A) Morfologia de MDA-MB-231 não-tratada (PBS) e tratada com EVh. Barra de escala: 50  $\mu$ m. (B) Morfologia de THP-1 não-tratada (PBS) e tratada com EVh. Barra de escala: 50  $\mu$ m. (C) Imagens de co-cultura sob microscopia de epifluorescência contendo células THP-1-CSFE (verde) e MDA-MB-231, com marcação de tubulina (rosa) e núcleo (azul). Barra de escala: 100  $\mu$ m. (D) Contagem de células após 2 horas de co-cultura. (E) Análise morfológica de circularidade celular. Valores estatisticamente relevantes ( $p > 0.05$ ) demonstrados no gráfico. (F) Proporção de células THP-1 aderidas em

co-cultura.  $p = 0.0073$ . (G) Zimogramas contendo amostras de sobrenadante do ensaio de co-cultura, contendo os pesos moleculares do padrão de proteína (PL) em kDa.

## **6. Considerações Finais**

O cultivo de uma linhagem inédita em suspensão (THP-1) no grupo de pesquisa, bem como sua diferenciação com PMA e com vesículas extracelulares hipóxicas, possibilitará sua aplicação em estudos vigentes compreendendo vesículas extracelulares e microambiente tumoral. Alterações na expressão gênica e proteica mediadas por EVh sugerem indiretamente a diferenciação em baixa escala de monócitos em macrófagos com fenótipos M2 e TAM, enquanto que o PMA diferencia grande parte das células precursoras em macrófagos com diferentes fenótipos. O tratamento com EVh sugere alteração morfológica em monócitos e células tumorais de mama cultivadas isoladas e em co-cultura, onde também se observou interação direta entre ambas. Não foi detectada atividade gelatinase em nosso experimento de co-cultura. A hipótese original foi refutada e os resultados deste relatório serão utilizados para acrescentar no estudo da interação de células do sistema Imune no microambiente tumoral regido por EVh.

## **7. Plano de Gestão de Dados**

O projeto contou com a avaliação automatizada das metodologias aplicadas, gerando dados computacionais em formatos de texto, número, imagem e vídeo. Os dados brutos estão organizados e foram depositados no sistema de armazenamento em nuvem “Google Drive” vinculado à Universidade Federal de São Carlos, sendo administrado pela orientadora e estando disponível mediante solicitação. Como medida de segurança, uma cópia física em hard drive externo foi mantida em paralelo.

## **8. Realizações do outorgado no período**

O outorgado realizou atividades referentes ao quarto ano do curso de Medicina na Universidade Federal de São Carlos com êxito. Além disso, esteve presente em atividades de laboratório, incluindo reuniões em grupo e individuais com as orientadoras, treinamento de biossegurança e treinamento de boas práticas em cultivo celular. Obteve experiência em técnicas de biologia celular e molecular amplamente utilizadas, como RT-qPCR, *western blotting*, zimografia e imunofluorescência. Durante os dias 10, 11, 18 e 19 de novembro, em 2023, o outorgado participou como ouvinte do XII Congresso Médico Universitário de São Carlos, onde pôde aprimorar seus conhecimentos acerca da sua graduação e do seu presente

projeto à medida em que uma das palestrantes foi a professora parceira Dra. Márcia Cominetti, coordenadora do Laboratório de Biologia do Envelhecimento (LABEN-UFSCar), que lecionou sobre a importância da bioquímica e da biologia molecular no desenvolvimento e progressão da Doença de Alzheimer, numa importante interdisciplinaridade entre prática clínica e bancada.

## **9. Agradecimentos**

Agradecemos ao Prof. Dr. Ricardo Carneiro Borra (DGE/UFSCar) pela doação da linhagem celular THP-1; à Prof.<sup>a</sup> Dra. Márcia C. Cominetti (Laboratório de Biologia do Envelhecimento, DGero/UFSCar) pela doação de reagentes e disponibilização da infraestrutura de PCR; ao Prof. Dr. Otávio Henrique Thiemann (IFSC/USP), pela disponibilização da ultracentrífuga Optima XE-90; à Prof.<sup>a</sup> Dra. Alexandra Ivo de Medeiros (FCFAR/UNESP) pela doação de reagente; à Prof.<sup>a</sup> Dra. Cynthia Aparecida Castro (Laboratório de Patologia e Biocompatibilidade, DMP/UFSCar), pelo auxílio com a técnica ELISA; ao Prof. Dr. Fausto Bruno dos Reis Almeida (FMRP/USP) pela disponibilização do Nanosight NS300; e à equipe do LBBM pela colaboração.

**ANEXO B - Segunda Iniciação Científica**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**Processo FAPESP:** 2024/15109-2  
**Relatório Científico:** 01/11/2024 a 31/10/2025

**CONHECIMENTOS E PRÁTICAS EM DOR NEONATAL  
EM PEDIATRAS BRASILEIROS**



*Pedro Henrique Teixeira Bottaro*



---

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cristina Ortiz Sobrinho Valete

São Carlos, SP - Brasil

7 de outubro de 2025

**1. Resumo do projeto de pesquisa**

O manejo da dor neonatal é fundamental na assistência pediátrica. Se antes acreditava-se que recém-nascidos não processavam estímulos dolorosos, atualmente, sabe-se que a exposição aos procedimentos dolorosos tem consequência no curto e longo prazo para a criança. Reconhecê-la, portanto, é de suma importância para que as práticas valorizem a avaliação e tratamento da dor, sendo fundamental analisar estas práticas e sua relação com fatores que possam modificá-la, como o conhecimento e as características dos profissionais. Neste projeto, investigamos as práticas em dor neonatal reportadas por pediatras e os fatores associados. A hipótese inicial era de que pediatras com maior conhecimento em dor tinham melhores práticas. Utilizamos uma coleta de dados online, com pediatras associados à Sociedade Brasileira de Pediatria e aplicamos um questionário com as características dos profissionais, os conhecimentos e as práticas em dor neonatal. As práticas em dor neonatal foram consideradas boas quando o valor foi superior à mediana encontrada, considerando as respostas em escala Likert, com pontuação de um a sete. As diferenças entre proporções foram calculadas pelo teste do qui-quadrado e, entre medianas, pelo teste de Mann-Whitney. A correlação entre conhecimento e práticas em dor foi avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman. A significância estatística foi de  $p < 0.05$ .

## **2. Plano metodológico**

Realizamos um estudo de natureza transversal observacional do tipo *survey*, acerca dos conhecimentos e práticas sobre dor neonatal, de pediatras do Brasil, associados à SBP. Utilizamos um questionário eletrônico construído por um painel de especialistas através da metodologia Delphi, que foi enviado aos profissionais por link, através da plataforma REDCap, em dois disparos por e-mail originados pela Sociedade Brasileira de Pediatria. A variável-desfecho deste estudo foram as boas práticas em dor neonatal (sim/não). Esta variável foi definida a partir das pontuações, sendo considerada *sim* quando a pontuação do profissional for igual ou superior a mediana obtida. A redação deste estudo seguirá o questionário CROSS<sup>1</sup>.

As variáveis do estudo foram:

### **1. Características dos profissionais**

1.1. Sexo biológico (categórica)

1.2. Idade (numérica)

1.3. Ano de graduação em medicina (numérica)

- 1.4. Tempo de formado (numérica)
- 1.5. Nível de formação (categórica ordinal)
- 1.6. Regime de trabalho (binária)
- 1.7. Tempo de trabalho da neonatologia (categórica ordinal)
- 1.8. Local onde atua com recém-nascidos (categórica)
- 1.9. Estado onde atua (categórica)
- 1.10. Ter residência médica em neonatologia (binária).

## 2. Conhecimentos e práticas em dor neonatal

Questionário de pesquisa			
<b>C1</b>	Os recém-nascidos de termo e prematuros sentem dor	<b>P1</b>	Você avalia a dor do recém-nascido na unidade neonatal?
<b>C2</b>	A dor neonatal pode ser avaliada sem o uso de escalas*	<b>P2</b>	Eu indico e favoreço a amamentação para aliviar a dor do recém-nascido antes e durante procedimentos dolorosos
<b>C3</b>	A dor pode alterar a frequência cardíaca e saturação de O <sub>2</sub> do recém-nascido	<b>P3</b>	Eu indico e favoreço a glicose oral ou sacarose para aliviar a dor antes e durante procedimentos dolorosos
<b>C4</b>	É importante avaliar a dor do recém-nascido	<b>P4</b>	Eu indico e favoreço a glicose oral ou sacarose com sucção não nutritiva para aliviar a dor antes e durante procedimentos dolorosos
<b>C5</b>	Você considera que tem conhecimento suficiente para avaliar a dor do recém-nascido	<b>P5</b>	Eu favoreço a posição canguru para aliviar a dor antes e durante procedimentos dolorosos
<b>C6</b>	Métodos farmacológicos aliviam a dor do recém-nascido	<b>P6</b>	Eu favoreço a contenção facilitada para aliviar a dor antes e durante procedimentos dolorosos
<b>C7</b>	O uso de analgésico opioide no tratamento da dor aguda no recém-nascido pode desencadear apnéia	<b>P7</b>	Eu indico e prescrevo analgésicos não opioides para aliviar a dor antes de procedimentos dolorosos
<b>C8</b>	Métodos não farmacológicos aliviam a dor do recém-nascido discordo	<b>P8</b>	Eu indico e prescrevo analgésicos opioides para aliviar a dor antes de procedimentos dolorosos

Quadro 1. Quadro sintetizando as perguntas relacionadas à segunda parte do questionário. Perguntas do mesmo universo semântico receberam a mesma cor. \*Pergunta pontuada de forma inversa (7-discordo totalmente, 1-concordo totalmente)

O questionário do estudo foi elaborado em duas partes: 1) as características dos profissionais, 2) oito perguntas sobre conhecimentos (C1-C8) e oito sobre práticas (P1-P8) em dor neonatal. Para a construção e ajuste deste questionário foi utilizado o instrumento do estudo de Capellini et al. (2014), com autorização da autora principal<sup>2</sup>. Este questionário foi anteriormente adaptado em outro estudo<sup>3</sup>. Esta segunda parte do questionário é composta por perguntas com respostas Likert de sete níveis, organizadas de forma que quanto maior a pontuação, maiores o conhecimento e melhores as práticas. O referencial teórico para a adaptação do questionário levou em consideração a Diretriz para prevenção e manejo da dor aguda por procedimentos dolorosos no período neonatal elaborada pelo Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira e as revisões sistemáticas da Colaboração Cochrane sobre amamentação e procedimentos dolorosos, uso de opioides para dor relacionada a procedimentos, analgésicos não opioides para dor relacionada a procedimentos e uma revisão guarda-chuva sobre eficácia e segurança das intervenções não farmacológicas para manejo da dor neonatal<sup>4,5,6,7,8</sup>.

*Critérios de inclusão:* ser pediatra associado à Sociedade Brasileira de Pediatria e atuar com recém-nascidos.

*Critérios de exclusão:* não responder o questionário por completo ou questionários duplicados.

### **3. Análise estatística**

Realizamos análise descritiva com cálculo de medianas e intervalos interquartil (IIQ) e proporções. As respostas em escala Likert foram quantificadas considerando a variação de 1 a 7. As respostas sobre as práticas em escala Likert também foram quantificadas individualmente e em conjunto. A variável de desfecho considerada foi a boa prática em dor (sim/não), de acordo com o valor da mediana observada (valores acima da mediana foram considerados boa prática). Comparamos as características dos profissionais e o conhecimento associadas às boas práticas. Analisamos as diferenças entre as medianas pelo teste de Mann-Whitney e entre proporções pelo teste do qui-quadrado e construímos uma matriz de correlação (Spearman) para investigar a relação entre o conhecimento e as práticas em dor. Para todas as análises consideramos p-valor < 0.05. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa Stata versão 18.0, pelo aluno e sua orientadora.

*Procedimentos éticos:* Este estudo foi aprovado pelo CEP-UFSCar; todos os participantes assinaram TCLE antes do preenchimento do questionário.

#### 4. Resultados e Discussão

Foram incluídos 144 pediatras. O alfa de Cronbach foi de 0.7747. Os principais resultados são apresentados e discutidos a seguir.

##### 4.1) Perfil dos profissionais

O manejo da dor neonatal é uma temática cada vez mais frequente e importante entre os serviços que cuidam de recém-nascidos. Entretanto, mesmo que atualmente existam ferramentas diversas para a abordagem da dor ao recém-nascido, na prática, o que se verifica é a heterogeneidade do cuidado e subnotificação e subtratamento da dor<sup>9,10,11,12</sup>. Nesse sentido, um dos nossos objetivos foi investigar se as características dos profissionais envolvidos no cuidado neonatal estão relacionadas a melhores ou piores conhecimentos e práticas em dor neonatal.

Em relação à distribuição geográfica dos profissionais entrevistados, verificamos uma concentração na região sudeste onde 36 (25%) se encontravam no estado de São Paulo, 19 (13,2%) no Rio de Janeiro e 14 (9,7%) em Minas Gerais. No sul, o principal representante foi o estado do Paraná, com 15 (10,4%) dos participantes. Este resultado era esperado, pois a maior parte dos serviços encontra-se na região sudeste, sendo esta super representada nos estudos.

A demografia médica varia consideravelmente ao longo das regiões brasileiras. O Sudeste tem 334.105 profissionais (3,77 por 1.000 habitantes), seguido pelo Centro-Oeste com 3,44 profissionais por 1.000 habitantes, Nordeste 2,21 e Norte 1,70. São Paulo e Rio de Janeiro lideram o número absoluto de médicos e juntos são responsáveis por 245.109 profissionais<sup>13</sup>.

Ainda, considerando que as demandas de cuidados neonatais mudam de acordo com o ambiente de assistência, também questionamos os entrevistados quanto aos locais de atuação com recém-nascidos e 102 (71%) dos entrevistados afirmaram trabalhar em UTI neonatal, 97 (67,4%) em sala de parto, 93 (64,6%) em alojamento conjunto e 74 (51,4%) em unidades intermediárias. Vale ressaltar que os profissionais podiam assinalar mais de um local de atuação. Desta forma, as respostas deste estudo se referem a profissionais muito ligados ao ambiente da terapia intensiva, que é justamente onde a maior parte dos procedimentos dolorosos é realizada<sup>4,14,15,16</sup>.

Em relação ao método de avaliação da dor, 55% dos profissionais optaram pelo uso de escalas, sendo a mais utilizada a NIPS, citada por 44% dos entrevistados, seguida pela

FLACC (12% dos entrevistados) e pela NFCS (5% dos entrevistados). A NIPS é uma escala multidimensional baseada nas alterações comportamentais do recém-nascido antes, durante e após a realização de procedimentos potencialmente dolorosos. Está validada há 10 anos no Brasil para dor aguda e pós-operatória e dispensa o uso de ferramentas adicionais à observação da expressão corporal do neonato termo ou pré-termo<sup>17</sup>. Como em Sarkaria e Gruszfeld (2022), seu uso é fácil e permite a abordagem também em ambientes de cuidados intensivos<sup>12</sup>. Ao que parece, esta escala é a mais conhecida pelos pediatras que participaram do estudo.

#### 4.2) *Conhecimento dos profissionais*

De maneira geral, partimos do pressuposto de que o conhecimento é elemento essencial para as práticas, denotando a relação entre o saber-fazer na saúde. Nesse sentido, é necessário entender os conceitos, a aplicabilidade e a relevância do uso das escalas de dor neonatal para que a ação seja coerente, sólida e funcione para a promoção do bem-estar e da qualidade do cuidado do recém-nascido. O uso de escalas faz essa ponte: uniformiza o conceito e permite a avaliação correta e ação correspondente adequada. Atualmente, as evidências mostram que existe uma lacuna entre o que se sabe e o que se faz, denotando que as práticas não têm acompanhado o conhecimento crescente<sup>4,14,18</sup>. Representamos graficamente o domínio *Conhecimento* do questionário (Gráfico 1), através do gráfico radar e observamos o menor desempenho/pontuação para o item 2, que se refere à possibilidade da dor neonatal ser avaliada *sem* o uso de escalas. Esperávamos, uma vez que esta pergunta teve suas respostas invertidas, que os profissionais discordassem totalmente. A baixa pontuação, de acordo com a escala Likert, nos diz que houve uma tendência dos profissionais em concordarem com tal afirmação, que aponta para uma importante fragilidade a ser superada. Este assunto deve ser enfatizado nos treinamentos aplicados a estes profissionais. É fundamental reforçar a importância do uso de escalas e quais são as mais adequadas para determinado serviço e perfil do recém-nascido<sup>2</sup>. Há certa dificuldade com o uso de escalas, apontada por outro estudo realizado na França, onde os profissionais, por exemplo, reportaram que estas escalas levam muito tempo<sup>9</sup>. Isso também passa pelo investimento em treinamentos e protocolos<sup>12</sup>.

Não observamos diferenças entre as características dos pediatras e o conhecimento em dor neonatal, como pode ser visto na Tabela 1. Este resultado nos surpreendeu, uma vez que o volume de informação que os especialistas recebem e a complexidade é superior em relação aos outros profissionais não neonatologistas, sugerindo que em relação ao conhecimento há

um nivelamento dos profissionais. Em outras palavras, esperávamos encontrar maior conhecimento para os especialistas.

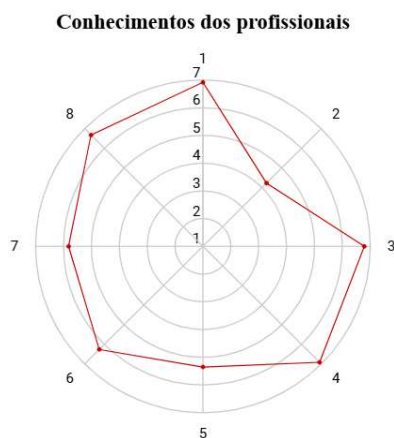


Figura 1. Gráfico em radar representando a amplitude das respostas em escala Likert do domínio de Conhecimentos.

Variável	Baixo conhecimento?			<i>p</i> valor*
	Sim, n (%)	Não, n (%)		
<b>Qual sexo de nascimento?</b>				
Feminino, n (%)	127 (88,2)	63 (49,6)	64 (50,4)	
Masculino, n (%)	16 (11,1)	10 (62,5)	6 (37,5)	0,3870
Não informado, n (%)	1 (0,7)	1 (100)	0	
<b>Qual seu maior nível de formação?</b>				
Graduação, n (%)	1 (0,7)	1 (100)	0	
Pós-graduação lato sensu, n (%)	92 (63,9)	51 (55,4)	41 (44,6)	0,2300
Pós-graduação stricto sensu, n (%)	51 (35,4)	22 (43,1)	29 (56,9)	
<b>Qual seu regime de trabalho principal?</b>				
Plantonista, n (%)	74 (51,4)	41 (55,4)	33 (44,6)	
Diarista, n (%)	43 (29,9)	21 (48,8)	22 (51,2)	0,5740
Outro, n (%)	27 (18,7)	12 (44,4)	15 (55,6)	
<b>Há quanto tempo você atua na área neonatal (em anos)?</b>				
< 1, n (%)	2 (1,4)	1 (50)	1 (50)	
De 1 a 2, n (%)	6 (4,2)	4 (66,7)	2 (33,3)	0,8500
De 2 a 10, n (%)	39 (27)	21 (53,8)	18 (46,2)	
> 10, n (%)	97 (67,4)	48 (49,5)	49 (50,5)	
<b>Você possui residência em neonatologia?</b>				
Não, n (%)	79 (54,9)	45 (57)	34 (43)	0,1400
Sim, n (%)	65 (45,1)	29 (44,6)	36 (55,4)	
<b>Idade em anos, mediana (IIQ)</b>	46,5 (37-54)	74 (51,4)	70 (48,6)	0,7596
<b>Tempo de formado em anos, mediana (IIQ)</b>	21 (10,5-29)	74 (51,4)	70 (48,6)	0,6862

\*associado ao teste do qui-quadrado ou de Mann-Whitney.

Tabela 1. Conhecimento em dor neonatal e características dos pediatras.

### 4.3) Práticas dos profissionais

Quando representamos graficamente as práticas, observamos menores pontuações de maneira geral para todas as perguntas, sendo as pontuações mais baixas para as perguntas 7 e 8, referentes ao tratamento farmacológico da dor, indicando alguma dificuldade neste (Figura 2).

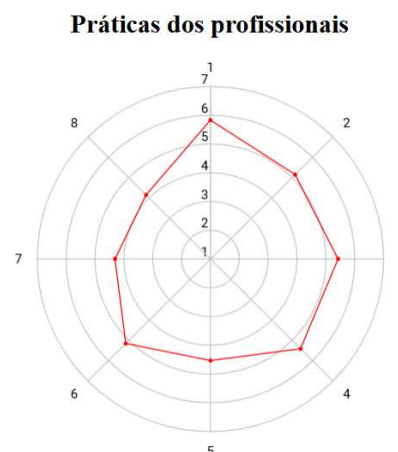


Figura 2. Gráfico em radar representando a amplitude das respostas em escala Likert do domínio Práticas.

Ainda, comparamos as práticas de acordo com a mediana encontrada, com as características dos profissionais e evidenciamos que houve diferença para aqueles que têm residência em neonatologia, que referiram melhores práticas (Tabela 2), o que discutiremos a seguir.

Variável	Práticas abaixo da mediana			p valor*
	Sim, n (%)	Não, n (%)		
<b>Qual sexo de nascimento?</b>				
Feminino, n (%)	127 (88,2)	60 (47,2)	67 (52,8)	
Masculino, n (%)	16 (11,1)	11 (68,7)	5 (31,3)	0,1620
Não informado, n (%)	1 (0,7)	1 (100)	0	
<b>Qual seu maior nível de formação?</b>				
Graduação, n (%)	1 (0,7)	1 (100)	0	
Pós-graduação lato sensu, n (%)	92 (63,9)	48 (52,2)	44 (47,8)	0,4350
Pós-graduação stricto sensu, n (%)	51 (35,4)	23 (45,1)	28 (54,9)	
<b>Qual seu regime de trabalho principal?</b>				
Plantonista, n (%)	74 (51,4)	38 (51,3)	36 (48,7)	
Diarista, n (%)	43 (29,9)	20 (46,5)	23 (53,5)	0,8610
Outro, n (%)	27 (18,7)	14 (51,8)	13 (48,2)	
<b>Há quanto tempo você atua na área neonatal (em anos)?</b>				
< 1, n (%)	2 (1,4)	1 (50)	2 (50)	
De 1 a 2, n (%)	6 (4,2)	5 (83,3)	1 (16,7)	
De 2 a 10, n (%)	39 (27)	21 (53,8)	28 (46,2)	0,3340
> 10, n (%)	97 (67,4)	45 (46,4)	42 (53,6)	
<b>Você possui residência em neonatologia?</b>				
Não, n (%)	79 (54,9)	46 (58,2)	33 (41,8)	<b>0,0290</b>
Sim, n (%)	65 (45,1)	26 (40)	39 (60)	
<b>Idade em anos, mediana (IIQ)</b>	46,5 (37-54)	45 (36,5-54)	47 (38-54)	0,6717
<b>Tempo de formado em anos, mediana (IIQ)</b>	21 (10,5-29)	20 (9,5-28,5)	21,5 (12,5-30)	0,4779

---

\*associado ao teste do qui-quadrado ou de Mann-Whitney.

*Tabela 2.* Práticas em dor neonatal e características dos pediatras.

Importante destacar que a área do gráfico radar para o conhecimento (Gráfico 1) é maior do que a observada para as práticas (Gráfico 2), denotando uma lacuna (gap) entre conhecimento e práticas, levando-nos ao questionamento do porquê isto acontece. Em 2024, Jember, et al. evidenciaram que 48% dos profissionais de saúde entrevistados possuíam conhecimento adequado, mas menos de 6% transformaram isso em boas práticas em dor neonatal, tanto em intervenções farmacológicas, como o uso de opioides, quanto nas estratégias não farmacológicas, como a sucção não nutritiva ou a amamentação<sup>19</sup>. Os autores mostraram que os principais meios para suplantar a distância entre conhecimento e prática são o investimento em atividades educativas e o esforço em uniformizar protocolos entre os diferentes profissionais envolvidos no cuidado neonatal e entre as instituições. No Brasil, esse cenário pode ser ainda mais desafiador, considerando a vastidão e heterogeneidade populacional e a concentração de serviços e profissionais em determinadas regiões.

De alguma forma, ter residência em Neonatologia foi associado a práticas acima da mediana. Os programas de residência médica em Neonatologia no Brasil duram 2 anos e têm como pré-requisito 3 anos de residência médica em Pediatria. Cuidados em sala de parto, UTI pediátrica, alojamentos conjuntos, ambulatórios e enfermarias são práticas essenciais em qualquer currículo de neonatologista. Isto pode ter influenciado os resultados encontrados. A prática constante em diferentes cenários ao longo da residência permite ao médico neonatologista o desenvolvimento de competências para a assistência adequada desde o nascimento até o 28º dia de vida, do termo ao pré-termo extremo, em situações como intubação orotraqueal, parada cardiorrespiratória, infecções e traumas<sup>20,21</sup>. Como exemplo, em 2024, Chen et al. observaram que, para a habilidade de intubação traqueal, além das características anatômicas das vias aéreas, a experiência do médico foi fator preditor de sucesso na primeira tentativa de intubação em recém-nascidos, acarretando menor tempo e menor risco de lesão no procedimento<sup>22</sup>. Entende-se, nesse sentido, que a destreza prática acompanha o nível de treinamento do profissional e o tempo dedicado àquela função, como ocorre na residência médica. Entendemos que este raciocínio poderia ser transposto para a formação em neonatologia e melhores práticas em dor, uma vez que são dois anos de intenso treinamento em serviço com recém-nascidos.

#### *4.4) Análises de correlações*

A matriz de correlações obtida encontra-se na figura a seguir (Figura 3). Observamos as correlações  $> 0,3$  e interpretamos. As afirmativas C3 e C4 mostraram correlação significativa entre si. Nesse sentido, podemos inferir que os profissionais que consideram importante o uso de escalas para a avaliação da dor neonatal também consideram que a dor altera a saturação de  $O_2$  e a frequência cardíaca podendo estes representarem sinais vitais importantes para identificação da dor, o que já foi descrito pela literatura anteriormente<sup>23,24</sup>.

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
C1	1,0000															
C2	-0,0193 <i>p</i> = 0,8182	1,0000														
C3	0,4781 <i>p</i> < 0,0001	-0,0030 <i>p</i> = 0,9717	1,0000													
C4	0,4252 <i>p</i> < 0,0001	0,1054 <i>p</i> = 0,2085	0,6224 <i>p</i> < 0,0001	1,0000												
C5	0,0928 <i>p</i> = 0,2687	0,0637 <i>p</i> = 0,4485	0,2266 <i>p</i> = 0,0063	0,2560 <i>p</i> = 0,002	1,0000											
C6	0,3073 <i>p</i> = 0,0002	0,0342 <i>p</i> = 0,6844	0,2279 <i>p</i> = 0,006	0,3449 <i>p</i> < 0,0001	0,3568 <i>p</i> < 0,0001	1,0000										
C7	0,1968 <i>p</i> = 0,0181	0,0479 <i>p</i> = 0,5682	0,2243 <i>p</i> = 0,0069	0,1722 <i>p</i> = 0,039	0,1773 <i>p</i> = 0,0335	0,0851 <i>p</i> = 0,3108	1,0000									
C8	0,2833 <i>p</i> = 0,0006	-0,0358 <i>p</i> = 0,6703	0,2962 <i>p</i> = 0,0003	0,3568 <i>p</i> < 0,0001	0,1332 <i>p</i> = 0,1116	0,3683 <i>p</i> < 0,0001	0,1329 <i>p</i> = 0,1123	1,0000								
P1	0,1736 <i>p</i> = 0,0375	-0,0122 <i>p</i> = 0,885	0,2492 <i>p</i> = 0,0026	0,3252 <i>p</i> = 0,0001	0,5843 <i>p</i> < 0,0001	0,3859 <i>p</i> < 0,0001	-0,0665 <i>p</i> = 0,1123	0,2368 <i>p</i> = 0,0043	1,0000							
P2	0,1004 <i>p</i> = 0,2312	0,0485 <i>p</i> = 0,5639	0,0969 <i>p</i> = 0,248	0,0875 <i>p</i> = 0,2969	0,2305 <i>p</i> = 0,0054	0,1981 <i>p</i> = 0,0173	0,1746 <i>p</i> = 0,0364	0,1605 <i>p</i> = 0,0546	0,2557 <i>p</i> = 0,002	1,0000						
P3	0,1009 <i>p</i> = 0,2287	0,0393 <i>p</i> = 0,6397	0,1985 <i>p</i> = 0,0171	0,2071 <i>p</i> = 0,0127	0,2831 <i>p</i> = 0,0006	0,2382 <i>p</i> = 0,004	0,0881 <i>p</i> = 0,294	0,0981 <i>p</i> = 0,2419	0,3656 <i>p</i> < 0,0001	0,2761 <i>p</i> = 0,0008	1,0000					
P4	0,1749 <i>p</i> = 0,0361	0,0148 <i>p</i> = 0,8599	0,2322 <i>p</i> = 0,0051	0,2659 <i>p</i> = 0,0013	0,3111 <i>p</i> = 0,0001	0,2126 <i>p</i> = 0,0109	0,0594 <i>p</i> = 0,4792	0,145 <i>p</i> = 0,0829	0,4273 <i>p</i> < 0,0001	0,3704 <i>p</i> < 0,0001	0,8449 <i>p</i> < 0,0001	1,0000				
P5	0,026 <i>p</i> = 0,7574	0,0175 <i>p</i> = 0,8353	0,1641 <i>p</i> = 0,0494	0,0814 <i>p</i> = 0,332	0,2859 <i>p</i> = 0,0005	0,0859 <i>p</i> = 0,3059	0,1446 <i>p</i> = 0,0837	0,0488 <i>p</i> = 0,5613	0,2475 <i>p</i> = 0,0028	0,6615 <i>p</i> < 0,0001	0,2796 <i>p</i> = 0,0007	0,3436 <i>p</i> < 0,0001	1,0000			
P6	0,1662 <i>p</i> = 0,0465	0,1083 <i>p</i> = 0,1965	0,2239 <i>p</i> = 0,007	0,2077 <i>p</i> = 0,0125	0,2353 <i>p</i> = 0,0045	0,152 <i>p</i> = 0,0689	0,0834 <i>p</i> = 0,32	0,1258 <i>p</i> = 0,1331	0,3698 <i>p</i> < 0,0001	0,3672 <i>p</i> < 0,0001	0,3379 <i>p</i> < 0,0001	0,371 <i>p</i> < 0,0001	0,5295 <i>p</i> < 0,0001	1,0000		
P7	0,2263 <i>p</i> = 0,0064	0,154 <i>p</i> = 0,0653	0,1657 <i>p</i> = 0,0472	0,2192 <i>p</i> = 0,0083	0,3105 <i>p</i> = 0,0002	0,2227 <i>p</i> = 0,0073	0,0401 <i>p</i> = 0,6335	0,222 <i>p</i> = 0,0075	0,4541 <i>p</i> = 0	0,3127 <i>p</i> = 0,0001	0,2792 <i>p</i> = 0,0007	0,3502 <i>p</i> < 0,0001	0,3283 <i>p</i> = 0,0001	0,3649 <i>p</i> < 0,0001	1,0000	
P8	0,2584 <i>p</i> = 0,018	0,0471 <i>p</i> = 0,5751	0,1981 <i>p</i> = 0,0173	0,2797 <i>p</i> = 0,0007	0,3936 <i>p</i> < 0,0001	0,3788 <i>p</i> < 0,0001	0,0599 <i>p</i> = 0,4754	0,1302 <i>p</i> = 0,1198	0,51 <i>p</i> < 0,0001	0,1159 <i>p</i> = 0,1665	0,179 <i>p</i> = 0,0318	0,2172 <i>p</i> = 0,0089	0,248 <i>p</i> = 0,0027	0,2892 <i>p</i> = 0,0004	0,4764 <i>p</i> < 0,0001	1,0000

Figura 3. Matriz de correlações entre oito perguntas de conhecimentos e oito de práticas, duas a duas.

As afirmativas P5 e P6 que, respectivamente, dizem sobre o favorecimento da posição canguru e da contenção facilitada como métodos não farmacológicos para alívio da dor, também se correlacionaram significativamente (0,5295). A posição canguru se baseia no contato pele a pele entre mãe e bebê. Trata-se de uma intervenção simples e um momento único de fortalecimento de vínculo, que, além de favorecer o aleitamento materno, auxilia na termorregulação, estabilidade cardiorrespiratória e analgesia neonatais<sup>25, 26</sup>. A contenção facilitada consiste em manter o bebê seguro em posição fletida seguro no tórax materno ou não, mimetizando a posição fetal intra útero, sendo também relacionada à diminuição da experiência dolorosa durante os procedimentos<sup>26,27</sup>. Nesse sentido, a partir da correlação evidenciada em nosso estudo e do conceito de ambas as práticas abordadas, poderíamos inferir que o envolvimento parental ativo com o recém-nascido durante a realização de um procedimento potencialmente doloroso é fundamental para o controle algico não-farmacológico do neonato. Em 2022, Eissler, et al. analisaram 22 estudos acerca da efetividade dessa intervenção como fator não-farmacológico de analgesia em pré-termos. Para a intervenção posição canguru, analisada em 86% dos estudos, observou-se, nos estudos, diminuição da frequência cardíaca, das caretas, do tempo de choro e dos escores de dor em diferentes escalas<sup>28</sup>. Dentre os trabalhos, o brasileiro Castral et al., 2008 ainda observou que a intervenção parental pode começar antes mesmo da realização do procedimento<sup>29</sup>. Para a contenção facilitada, analisada em 9% dos estudos, estes indicaram que a diminuição dos escores de dor podem se dar, principalmente, se a intervenção estiver associada ao uso não-farmacológico de glicose oral. Ademais, em situações onde a presença parental não é possível, a contenção facilitada pode ser um alternativa, inclusive auxiliada pela voz materna<sup>28</sup>. Sugere-se que, ainda no desenvolvimento intrauterino, por volta de 24 semanas de gestação, o feto inicia a maturação do seu sistema auditivo estimulado pelos batimentos cardíacos e voz maternos, fortalecendo o vínculo com a mãe mesmo antes do nascimento<sup>28</sup>. Assim, ao ser exposto a procedimentos dolorosos, o neonato pode continuar se beneficiando de ouvir a voz da mãe, controlando sua frequência cardíaca, sua saturação de oxigênio e sua sensação de dor<sup>30</sup>. Com isso, vemos que nosso achado é corroborado pela literatura e indica que a participação parental ativa é uma estratégia não farmacológica em potencial para o controle da dor durante procedimentos em recém-nascidos.

#### *4.5) Correlação entre conhecimentos e práticas*

A análise das correlações de Spearman entre as perguntas do domínio conhecimento e do domínio práticas revelou que houve correlação significativa ( $p < 0.05$ ) com valores

superiores a 0,3 entre P1 e C5 (0,5843), P8 e C5 (0,3936), P1 e C6 (0,3859), P8 e C6 (0,3788), P1 e C4 (0,3252), P7 e C5 (0,3105) e P4 e C5 (0,3111).

*P1 e C5 (0,5843): Você considera que tem conhecimento suficiente para avaliar a dor do recém-nascido? Você avalia a dor do recém-nascido na unidade neonatal?*

A maior correlação observada foi então entre avaliar a dor e achar que tem conhecimento suficiente. Isto aponta para a importância da confiança do pediatra no que se refere ao conhecimento e a avaliação da dor na prática, reforçando a necessidade deste assunto ser abordado em todos os níveis de ensino. Atualmente, sabemos que recém-nascidos sentem dor, apesar do amadurecimento sensitivo ocorrer após o nascimento, as estruturas anatômicas responsáveis por esse fenômeno já estão em desenvolvimento ainda na vida intrauterina<sup>31</sup>. Essa não era, entretanto, uma ideia consagrada até meados do último século e o conhecimento atual representa uma mudança de paradigma que até hoje encontra resistência na prática, e embora menor do que antigamente, ainda representa potenciais riscos quando não se traduz numa prática voltada para garantir o bem-estar do recém-nascido<sup>2,3,4</sup>. Dessa forma, avaliar e tratar só passam a ser práticas pertencentes ao cotidiano do profissional de saúde quando, antes de tudo, se reconhece que a dor neonatal existe. A partir dessa premissa, portanto, podem ser traçados protocolos e estratégias de assistência e educação que alinhem a literatura vigente com a atuação de cada profissional.

*P8 e C5 (0,3936): Eu indico e prescrevo analgésicos opióides para aliviar a dor antes de procedimentos dolorosos. Você considera que tem conhecimento suficiente para avaliar a dor do recém-nascido?*

Este resultado aponta para correlação entre achar que tem conhecimento suficiente em dor e indicar e prescrever opióide para dor neonatal. Analgésicos opióides têm sido utilizados há bastante tempo para o manejo da dor neonatal e predominam dentre as abordagens de manejo farmacológico, sendo primeira linha de escolha, principalmente, em ambientes de cuidados intensivos, onde os recém-nascidos tendem a precisar de um maior número de procedimentos dolorosos<sup>6</sup>. Além disso, é um uso que tende a aumentar na medida em que se desenvolve o conhecimento necessário sobre a necessidade de tratamento da dor neonatal<sup>32</sup>. Dentro da classe, a morfina e o fentanil são os principais representantes e podem de fato ser úteis para o controle da dor, evidenciado pela redução na pontuação em algumas escalas. São medicamentos frequentemente utilizados de maneira intravenosa, possivelmente porque essa via possibilita uma administração mais fácil, com um efeito mais rápido e uma titulação de

dose otimizada, sendo, inclusive a melhor opção em quadros mais complicados, onde o neonato precisa estar sedado. Nesse sentido, o uso de analgésicos opióides é muito atrativo, mas deve ser visto com cautela. A curto prazo, são fármacos que podem causar alterações fisiológicas importantes como a bradicardia e apneia. A longo prazo, podem prolongar a hospitalização e prejudicar o desenvolvimento neuropsicomotor<sup>33</sup>. Assim, é fundamental que a dose, o tempo, a via e a escolha do fármaco sejam individualizados, o que atualmente carece de evidências robustas<sup>6</sup>.

*P1 e C6 (0,3859): Você avalia a dor do recém-nascido na unidade neonatal? Métodos farmacológicos aliviam a dor do recém-nascido.*

Este resultado sugere que os pediatras que avaliam a dor do recém-nascido acreditam que métodos farmacológicos aliviam a dor. Verificamos em nosso estudo, que cerca de 90% dos profissionais avaliam, com alguma frequência, a dor neonatal sem seus serviços, o que é corroborado pelo estudo brasileiro de Capellini et al., 2014 mas, apesar disso, apenas 38% dos pediatras afirmaram usar alguma escala para fazê-lo<sup>2</sup>. Assim, podemos inferir que, quando a dor é avaliada e evidenciada pelo profissional de forma objetiva, o emprego de estratégias farmacológicas tende a acompanhar. Os opióides são a principal classe medicamentosa empregada, principalmente, em dor moderada a severa e em cuidados intensivos, onde o volume de procedimentos potencialmente dolorosos é maior. Morfina e fentanil são os representantes mais comuns e podem ser empregados de forma pontual em procedimentos, em pós-operatório, ou em pacientes em ventilação. Os perfis de eficácia e segurança, bem como dosagem correta, entretanto, merecem mais estudos tanto em pré-termos, quanto em bebês de termo (KINOSHITA et al., 2023)<sup>6</sup>. O cenário do uso de opióides ainda é cinza. Atualmente, o caminho tende para um uso mais reservado desse tipo de medicamento, sendo preconizado em casos refratários às estratégias sem opióides (farmacológicas ou não), e para uma estratégia multimodal<sup>34</sup>. Nesta, preza-se por poupar o uso de opióides e associar estratégias. Assim, o paracetamol pode ser uma ferramenta interessante, posto que é útil em pós-operatório, em dores leves a moderadas e o seu uso tende a diminuir a necessidade de opioide, com um perfil mais previsível de efeitos adversos<sup>34, 35</sup>.

*P8 e C6 (0,3788): Eu indico e prescrevo analgésicos opióides para aliviar a dor antes de procedimentos dolorosos. Métodos farmacológicos aliviam a dor do recém-nascido.*

Este resultado sugere que os pediatras que acreditam que os métodos farmacológicos aliviam a dor, indicam e prescrevem opióides. Isso nos direciona para o papel importante e difundido que os opióides desempenham na analgesia farmacológica do recém-nascido. São medicamentos que atuam em uma ampla gama de receptores ao longo das vias nociceptivas centrais e periféricas e essa janela de atuação permite um efeito terapêutico satisfatório em muitos casos, mas abre margem para a preocupação com os efeitos adversos, como apneia e bradicardia<sup>34,35</sup>. Muito do uso de opióides se dá pela extrapolação de mecanismos farmacológicos em crianças maiores ou adultos. Entretanto, há de se ressaltar que um recém-nascido possui limitações fisiológicas quanto à metabolização e sensibilidades a alguns fármacos, tornando incertos os efeitos de qualquer dose administrada, enteral ou parenteral. Assim, para neonatos, o uso de opióides deve ser mais bem estudado e individualizado, considerando o tipo de procedimento doloroso que foi realizado, o nível de dor, a idade, o peso e o insucesso da analgesia sem opióides<sup>36,37</sup>.

*P1 e C4 (0,3252): Você avalia a dor do recém-nascido na unidade neonatal. É importante avaliar a dor do recém-nascido*

Esta correlação sugere que os pediatras que consideram importante avaliar a dor do recém-nascido, de fato, a avaliam. Essa correlação nos traz um ponto primordial, que consideramos a base da abordagem à dor neonatal: para avaliá-la, precisamos saber que ela existe. Nesse sentido, a avaliação do recém-nascido com dor é importante porque ela acarreta consequências a curto e longo prazo, na mudança de parâmetros fisiológicos que indicam estresse e na modulação do desenvolvimento neuronal e sensitivo, respectivamente<sup>4</sup>. Recém-nascidos de termo e pré-termo diferem substancialmente quanto às consequências da exposição prolongada. Os últimos, em geral, necessitam de maior tempo de internação em unidade neonatal e assim, estão potencialmente expostos a mais procedimentos dolorosos, e por mais tempo. A avaliação, portanto, deve ser ainda mais rigorosa nesses pacientes<sup>4</sup>. Apesar de ser, possivelmente, a mais sensível das alterações, o choro não é específico da dor e pode estar presente em outras situações. Consequentemente, e também para unificar e tornar a avaliação mais objetiva, esse marcador deve estar acompanhado de outros sinais dentro da análise baseada no uso de escalas. Entretanto, menos da metade dos pediatras participantes (38%) relataram utilizar alguma escala, o que nos gera uma contradição e suscita a discussão se essa avaliação auto relatada é realmente realizada.

*P7 e C5 (0,3105): Eu indico e prescrevo analgésicos não opioides para aliviar a dor antes de procedimentos dolorosos. Você considera que tem conhecimento suficiente para avaliar a dor do recém-nascido*

Este resultado indica que os pediatras que consideram ter conhecimento sobre dor neonatal tendem a indicar e prescrever analgésicos não opióides. Essa correlação é importante e aproxima nosso estudo à tendência da literatura atual de preconizar o uso de analgesia simples antes de se optar pelo uso de opióides, restringindo-os a dores mais intensas. Apesar do uso bastante difundido e das possibilidades quanto ao início de ação, duração do efeito e vias de administração da morfina e outros opióides, a literatura atual é mais cautelosa nas indicações destes medicamentos devido ao alerta quanto aos possíveis efeitos adversos. A cetamina é um analgésico antagonista N-metil-D-aspartato (NMDA) com potenciais efeitos sedativo e amnésico e pouco efeito hemodinâmico, sendo atrativo para procedimentos mais invasivos em bebês instáveis<sup>35</sup>. Não parece ser superior aos opióides em eficácia, mas tem um perfil interessante de efeitos adversos menos graves<sup>36,37</sup>. A clonidina, um agonista adrenérgico, exerce sua analgesia modificando a ação de diferentes neurotransmissores sem reduzir o padrão respiratório. Também carece de evidências que embasam sua recomendação na prática, mas tem sido usada de forma satisfatória como meio de reduzir a dose necessária de opióides, reduzindo os potenciais efeitos adversos destes<sup>38</sup>. O inibidor da COX-2, paracetamol, entra como um analgésico seguro em recém-nascidos, com um bom perfil de efeitos adversos se administrado tanto oral, quanto endovenoso, sendo adequado, principalmente, para dor pós-cirúrgica. Em 2022, Daverio et al. mostraram que o paracetamol pode ser a principal escolha para reduzir a carga do uso de opióides<sup>39</sup>. Os agentes tópicos, como a lidocaína em pomada, também apresentam-se como alternativa interessante para o controle da dor em procedimentos de punção (venosa ou lombar, por exemplo), onde a ação tópica possibilita um menor tempo para início de ação e um perfil de segurança<sup>35</sup>.

*P4 e C5 (0,3111): Eu indico e favoreço a glicose oral ou sacarose com sucção não nutritiva para aliviar a dor antes e durante procedimentos dolorosos. Você considera que tem conhecimento suficiente para avaliar a dor do recém-nascido.*

Este resultado sugere que os pediatras que consideram ter conhecimento suficiente sobre a dor neonatal tendem a indicar a glicose oral ou sacarose com a sucção não-nutritiva para o manejo da dor em recém-nascidos. Essa correlação também é bem-vinda, ao passo em que traz luz ao uso de estratégias não farmacológicas para controle da dor, embora alguns autores

entendem a administração de glicose ou sacarose como estratégia farmacológica. A sucção não nutritiva consiste em estimular a sucção do recém-nascido sem que esteja associada a algum alimento. Ao ativar este reflexo, buscamos diminuir a ativação de vias nociceptivas e modular a ação serotoninérgica, trazendo conforto para o bebê. Trata-se de uma intervenção barata, segura e eficaz, com efeitos adversos mínimos em recém-nascidos a termo<sup>4</sup>. A principal indicação está em procedimentos dolorosos de potencial leve a moderado, onde não há maiores dificuldades de deglutição e pode ser associada a outras estratégias não-farmacológicas, como a posição canguru, a contenção facilitada e o uso de soluções adocicadas (glicose 25% a 30%)<sup>4</sup>. Esta última é uma das principais estratégias empregadas atualmente. Entretanto, considerando a necessidade de doses e regimes de administração individualizados e a não isenção de efeitos adversos como neurotoxicidade, as soluções glicosadas vem sendo incluídas no rol de medidas farmacológicas<sup>39</sup>. Consiste no estímulo às papilas gustativas com soluções de sacarose ou glicose, visando a produção de opióides endógenos que ajudarão a modular o impulso doloroso. São práticas que dependem de prescrição, o que beneficia a ampliação de seus usos e benefícios. Além disso, o efeito sinérgico da sucção não nutritiva e da solução adocicada pode ser mais bem explorado a fim de dar conforto ao neonato em procedimentos como a punção de calcâneo e a venopunção, dados como de leve a moderado potencial doloroso<sup>4,11</sup>.

#### *4.6) Análise de Correspondência Múltipla*

Fizemos também, embora não previsto na proposta inicial, a análise de correspondência múltipla (ACM) para as variáveis com valores de correlação superiores a 0,3. Como o C4 não variou (todas as respostas foram concordo e concordo totalmente), não foi incluída na ACM. Utilizamos o comando `mca P1 P4 P7 P8 C4 C6` e em seguida, `mcaplot, overlay origin` no Stata.

A análise de correspondência múltipla (ACM) permite o processamento simultâneo de forma descritiva, de três ou mais variáveis categóricas. Com ela é possível a visualização espacial dos dados, mostrando a relação entre as categorias de múltiplas variáveis. Separa-se, portanto, as categorias de modo que as mais relacionadas são plotadas próximas e as menos relacionadas distantes umas das outras, criando subgrupos homogêneos (ARTES, 2023)<sup>40</sup>.

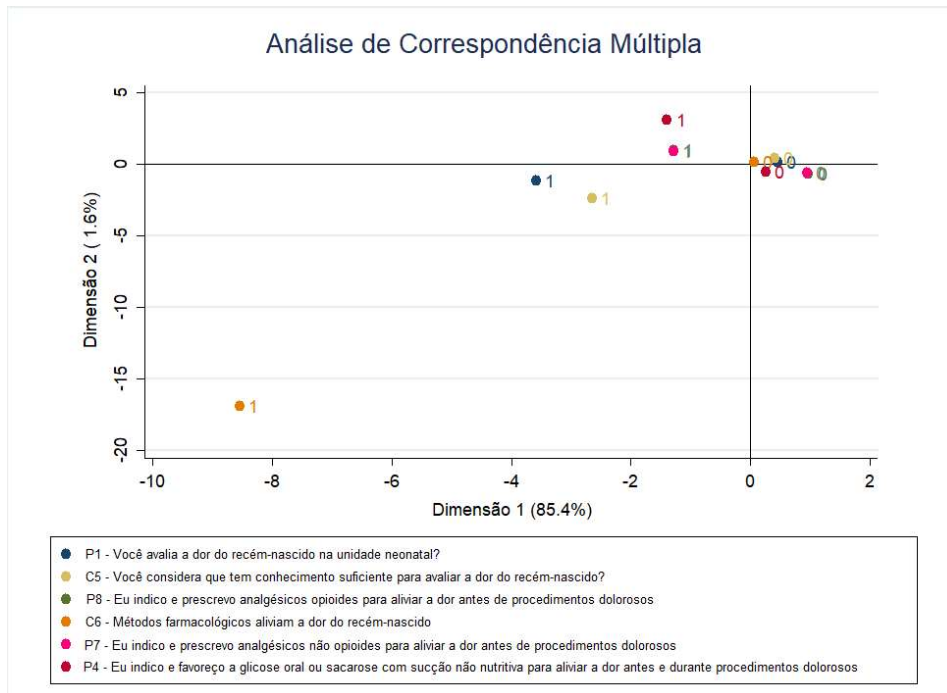


Figura 4. Gráfico da Análise de Correspondência Múltipla (0 - Concordar, 1 - Discordar).

No gráfico, foi observada correspondência entre as respostas concordantes em especial para P7 e P8. Ainda, foi observada correspondência para as respostas discordantes de P7 e P8 sugerindo que estas duas práticas caminham em conjunto, seja para concordância ou para discordância (Figura 4).

Pelo gráfico acima, observamos correspondências que gostaríamos de destacar. Os pontos de P1 e C5 para as respostas DISCORDO (1) apresentaram correspondência, o que está de acordo com as correlações observadas e já discutidas anteriormente. Também, as respostas DISCORDO (1) para P7, P4 e P8, que refere-se ao tratamento farmacológico da dor, foram correspondentes, sugerindo que estas práticas caminham em conjunto. Ou seja, quando um profissional não indica glicose ou sacarose com sucção, ele também não indica analgésicos opióides ou não opióides. Ainda, as respostas CONCORDO (0) de todas as perguntas ficaram muito próximas, sugerindo que a concordância de todas seja correspondente, tanto das práticas quanto do conhecimento.

A prática em dor neonatal pende numa balança que tenta equilibrar os efeitos deletérios da exposição precoce e prolongada à dor e os efeitos adversos das medicações analgésicas<sup>41</sup>. Nesse sentido, apesar de ser a classe farmacológica mais utilizada, os opióides

podem apresentar extensa variabilidade farmacocinética e farmacodinâmica no período neonatal. Ademais, seu uso não é inócuo, devendo ser reservados para dor moderada a intensa.

Por outro lado, percebemos que as correspondências predominam entre as práticas farmacológicas de manejo da dor, principalmente, se considerarmos as soluções adocicadas como tais, segundo preconiza a Sociedade Brasileira de Pediatria<sup>42</sup>.

## **5. Produtos**

Neste período, tivemos dois produtos desta IC. Uma apresentação de trabalho em congresso e uma submissão à revista Brazilian Journal of Pain, que se encontram a seguir.

5.1) *Apresentação de trabalho (pôster) no 17º Congresso Brasileiro de Dor da Sociedade Brasileira para estudo da Dor, em maio de 2025.* O resumo será publicado em suplemento da revista Brazilian Journal of Pain.

## CONHECIMENTOS E PRÁTICAS EM DOR NEONATAL EM PEDIATRAS BRASILEIROS

Pedro Henrique Teixeira Bottaro<sup>1</sup>; Cristina Ortiz Sobrinho Valete<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Processo 2024/15109-2

### INTRODUÇÃO

Recém-nascidos sentem dor e estão sujeitos a procedimentos dolorosos em ambiente hospitalar, sendo essa exposição precoce e repetida potencialmente danosa no curto e longo prazo.

### OBJETIVOS

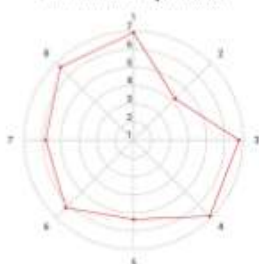
Investigar os conhecimentos e práticas de pediatras em relação à dor neonatal.

### METODOLOGIA

Estudo do tipo *survey online*, com aplicação de um questionário eletrônico, via SBP, contendo as características dos pediatras, conhecimentos e práticas em escala Likert de 7 pontos. Analisamos a relação entre o conhecimento e as práticas pelo teste de Spearman e a consistência interna do questionário pelo alfa de Cronbach. As análises consideraram  $p < 0.05$ . Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

### RESULTADOS

Conhecimentos dos profissionais



Analisamos as respostas de 144 pediatras: 88% do sexo feminino, com medianas de idade e tempo de formado de 46,5 anos e 21 anos, respectivamente. O alfa de Cronbach foi 0.7747. A mediana do conhecimento foi 49 (IIQ 47,0-51,0) e maior que a das práticas 40,5 (IIQ 34,5-47,0).

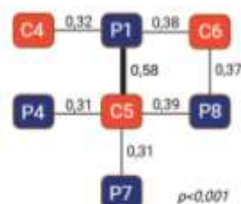
Práticas dos profissionais



55 (38,2%) relataram usar alguma escala de avaliação da dor, sendo a mais frequente a NIPS em 44 (80,0%).

Coefficientes de Spearman  $> 0,3$

C4 - É importante avaliar a dor do RN  
C5 - Tenho conhecimento suficiente para avaliar a dor do RN  
C6 - Métodos farmacológicos aliviam a dor do RN



P1 - Avalio a dor do RN  
P4 - Indico e favoreço a glicose oral ou sacarose com sucção não nutritiva  
P7 - Indico e prescrevo analgésicos não-opioides  
P8 - Indico e prescrevo analgésicos opioides

### CONCLUSÃO

Observamos uma lacuna entre o conhecimento e as práticas e há fragilidade no uso de escalas de avaliação da dor neonatal. O conhecimento foi associado à avaliação da dor e indicar glicose com sucção, analgésicos não opióides e opióides.

### REFERÊNCIAS

Acesse as referências escaneando o QR Code ao lado.





## 5.2) Artigo submetido ao BrJP em 3 de agosto de 2025



## 6. Reflexões do aluno

Ser médico sempre foi um objetivo. Enxerguei, ainda no ensino médio, que essa seria a minha profissão e seria assim que eu gostaria de ser chamado. Também sempre tive em mente que não seria algo alcançado e resolvido com a entrega do diploma, pelo contrário: somos médicos a cada paciente atendido, a cada exame físico feito, a cada conduta e a cada manhã de enfermagem ou noite de pronto-socorro. O término da graduação é apenas o início. Trata-se de uma construção diária e infinita.

Não é um sonho, entretanto. Somos profissionais que escolhemos trabalhar no pior momento da vida de alguém, quando este se sente fragilizado e isso é de uma responsabilidade difícil de descrever.

Além disso, a medicina é um método. Não existe medicina sem anamnese e exame físico, repetidos incansavelmente, de modo a aperfeiçoar o que é entregue a cada contato com o paciente. E sempre me foi claro que eu seria tão melhor médico, quanto maior fosse a minha compreensão das searas que envolvem a profissão: da pesquisa científica ao contato com o paciente.

Nesse sentido, a minha ideia era debulhar a graduação e tirar dela tudo que estivesse ao meu alcance, me envolvendo em atividades que ampliassem a minha visão de mundo e de médico. Com isso, vieram projetos em comunicação em saúde (InformaSUS-UFSCar), uma IC no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFSCar (financiada pela FAPESP) e o presente trabalho, que me aproximou de uma das professoras mais importantes na minha trajetória e me trouxe experiência com um tipo de pesquisa que eu ainda não tinha familiaridade. Desenvolvi habilidades de análise estatística em estudos transversais, conheci metodologias novas como escala Likert e ACM, me envolvi e descobri uma área muito sensível e importante da pediatria. Aprendi sobre ética de trabalho e responsabilidade. Além de ter compartilhado nosso trabalho com sucesso no CBDor.

Entrego este relatório às vésperas de me tornar médico e iniciar a minha caminhada fazendo o que acredito e o que me ensinaram com muito carinho e atenção.