

# A INTERAÇÃO ENTRE A UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO E O HOSPITAL NAVAL MARCÍLIO DIAS, NA PESQUISA TRANSLACIONAL BÁSICO-CLÍNICA SOBRE A PROGRESSÃO TUMORAL

Recebido em 04/09/2015  
Aceito para publicação em 10/09/2015

1<sup>o</sup>Ten (RM2-Md) Maria Alice Fusco de Souza <sup>1</sup>  
CF (Md) Marcelo Leal Gregório <sup>2</sup>  
CF (Md) Ana Lucia Botelho Guimarães Arêas <sup>3</sup>  
CT (S) Miguel Fontes Domingues <sup>4</sup>  
3<sup>o</sup>SG-PC Verônica de Andrade Coelho da Silva <sup>5</sup>  
Eliene Oliveira Kozlowski de Farias <sup>6</sup>  
Mauro Sérgio Gonçalves Pavão <sup>7</sup>

## RESUMO

O presente artigo apresenta a parceria científica entre o Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis (IBqMLM) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e o Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) do Hospital Naval Marcílio Dias (HNMD). Mais especificamente, são descritas as linhas de pesquisa relacionadas à progressão tumoral em bases moleculares pertencentes ao IBqMLM e os próximos passos a serem desenvolvidos no IPB por meio de análises *in vitro* e *in vivo* visando, num futuro próximo, a utilização das descobertas científicas no campo da prática clínica. A parceria IPB / IBqMLM reflete o princípio da pesquisa translacional, em que os achados laboratoriais são traduzidos em novas práticas médicas tendo como objetivo final a prevenção, o diagnóstico e o tratamento das doenças.

**Palavras-chave:** Pesquisa médica translacional; Metástase neoplásica; Urocordados; Transição epitelial-mesenquimal; Manganês.

## INTRODUÇÃO

Em um contexto geral, pesquisa translacional é o processo de tornar observações obtidas no laboratório, na clínica e na comunidade em intervenções que melhorem a saúde de indivíduos e do público – desde o diagnóstico e a terapêutica até os procedimentos médicos (segundo o Centro Nacional de Avanços em Pesquisa Translacional, do NIH-USA). No entanto, do ponto de vista básico-clínico, a pesquisa translacional pode contemplar três etapas: o estudo das bases moleculares envolvidas em uma determinada doença por meio de experimentos *in vitro*; os estudos pré-clínicos, onde as bases moleculares investigadas *in vitro* são avaliadas em modelos experimentais em animais, *in vivo*; e os estudos clínicos, onde as bases moleculares de doenças, investigadas nos experimentos *in vitro* e *in vivo*, são testadas em seres humanos.<sup>1</sup>

Do ponto de vista operacional, a pesquisa translacional deve contar com a participação de pesquisadores da área biomédica com sólida formação básica-molecular; que venham de uma instituição que ofereça uma infraestrutura de pesquisa básica; instituição esta que, por sua vez, tenha uma estrutura profissional multidisciplinar da área clínica com interesse em pesquisa; e, finalmente, uma infraestrutura assistencial adequada, um banco de dados de seus pacientes e um banco de amostras de tecidos (importante principalmente em estudos retrospectivos).<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Médica Veterinária. Doutora em Ciências pela Faculdade de Medicina – UFRJ. Ajudante da Seção de Cirurgia Experimental do Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) do Hospital Naval Marcílio Dias. E-mail: alicefusco@hnmil.mar.mil.br

<sup>2</sup> Médico. Especialização Observership pela Cleveland Clinic Florida, USA. Encarregado do Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) do Hospital Naval Marcílio Dias.

<sup>3</sup> Médica. Chefe do Serviço de Patologia do Hospital Naval Marcílio Dias.

<sup>4</sup> Farmacêutico. Assistente do Serviço de Patologia do Hospital Naval Marcílio Dias.

<sup>5</sup> Farmacêutica. Supervisora do Setor de Histotecnologia do Serviço de Patologia do Hospital Naval Marcílio Dias.

<sup>6</sup> Professora Visitante do Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, Centro de Ciências da Saúde - UFRJ.

<sup>7</sup> Professor Associado do Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, Centro de Ciências da Saúde - UFRJ.

**O modelo de interação Instituto de Pesquisas Biomédicas do Hospital Naval Marcílio Dias e o Instituto de Bioquímica Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro.**

Para exemplificar um modelo de parceria institucional de pesquisa translacional, em um contexto de pesquisa básico-clínica, descrevemos de forma mais detalhada, a parceria entre o Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) do Hospital Naval Marcílio Dias (HNMD) e o Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis (IBqMLM) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

A interação entre IPB-HNMD/IBqMLM-UFRJ fornece todos os elementos necessários ao desenvolvimento de estudos translacionais básicos clínicos, uma vez que o seu conjunto tem permitido: o estudo das bases moleculares de doenças; a identificação de moléculas alvo; a identificação de novos agentes terapêuticos; a comprovação do conceito básico pela prática através do desenvolvimento dos estudos clínicos retrospectivos e prospectivos em pacientes.

Nesta interação, os pesquisadores do IBqMLM-UFRJ apresentaram ao IPB a hipótese sobre o mecanismo molecular de progressão tumoral de carcinomas, fruto do trabalho de pesquisa básica desenvolvido durante a realização de um projeto de mestrado, vinculado ao Programa de Pós-graduação em Química Biológica da UFRJ. Juntamente com pesquisadores do IBqMLM-UFRJ, pesquisadores do IPB e médicos do Serviço de Patologia Clínica do HNMD, envolvendo profissionais de diferentes expertises, desenharam dois estudos clínicos translacionais: um estudo retrospectivo e outro prospectivo, que foram submetidos à avaliação e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HNMD. Esta característica multidisciplinar é de fundamental importância à pesquisa translacional.

## Bases moleculares da progressão tumoral

A doença metastática é a responsável por mais de 95% dos óbitos dos pacientes com câncer e está relacionada com a progressão tumoral. A complexidade do fenômeno é evidente, envolvendo vários mecanismos moleculares e celulares que ocorrem no tumor primário, no sítio pré-metastático e no interior do vaso, na corrente sanguínea.<sup>3</sup>

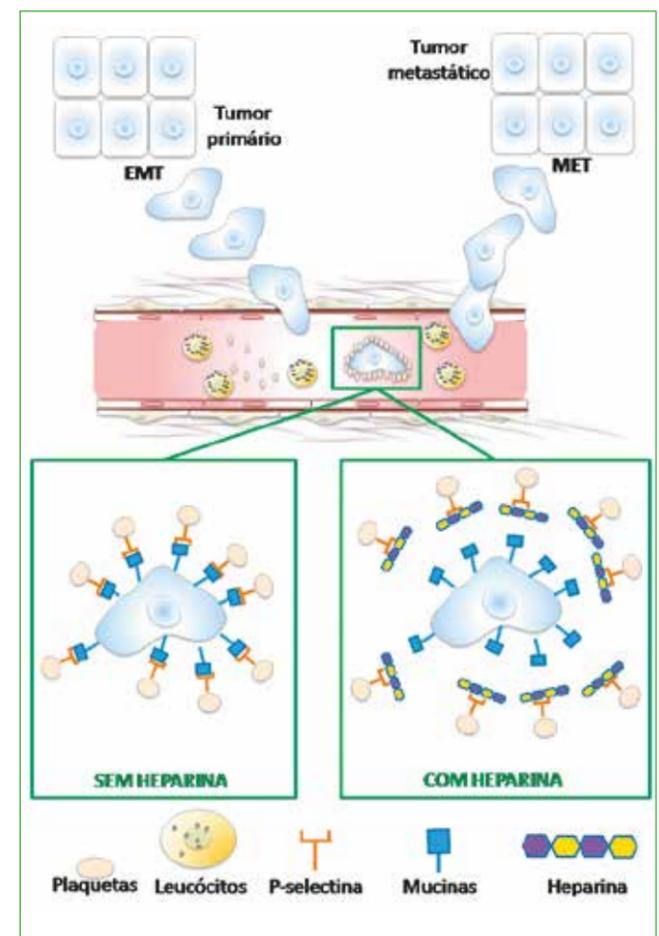
Em todos os sítios presentes na progressão tumoral existe uma interação dinâmica e complexa entre o microambiente e as células tumorais. Assim, no tumor primário, o fenômeno mais importante é a transição do fenótipo epitelial das células tumorais para o fenótipo mesenquimal. Este novo fenótipo confere à célula a capacidade de migrar pelo tecido e alcançar o vaso sanguíneo. No sítio metastático, ocorre o fenômeno oposto, ou seja, a transição do fenótipo mesenquimal das células tumorais para o epitelial, que permite com que o tumor se estabeleça e cresça. Já os fenômenos que acontecem no interior do vaso permitem a sobrevivência das células tumorais e a colonização de órgãos distantes. Conjuntamente, estes são denominados de metástase hematogênea e será um dos focos deste artigo.<sup>4</sup>

As moléculas de importância para a sobrevivência da célula tumoral no interior do vaso são a mucina e a P-selectina, moléculas de adesão celular. A mucina está presente em grande quantidade na superfície das células tumorais, enquanto que a P-selectina é expressa na superfície de plaquetas ativadas. A interação da célula tumoral com a plaqueta no interior do vaso é mediado pela ligação da P-selectina da plaqueta e a mucina da célula tu-

moral. O complexo célula tumoral-plaqueta é importante para a sobrevivência da célula tumoral na corrente sanguínea durante a metástase.<sup>5</sup>

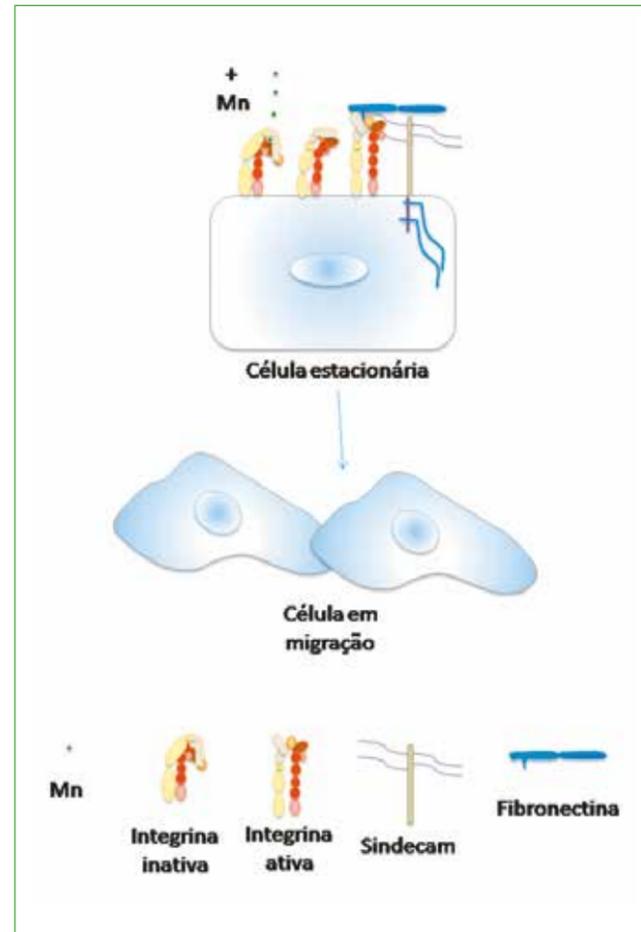
## O efeito anti-P-selectina da heparina

A heparina é um composto natural obtido de mucosa intestinal suína, usado como anticoagulante principalmente na prevenção da trombose venosa. No entanto foi mostrado que a heparina comercial é também capaz de inibir a ligação de P-selectina à mucina e consequentemente a formação do complexo célula tumoral-plaqueta. A dinâmica dos eventos envolvidos na formação da metástase hematogênea é observada na (Figura 1). Células tumorais no tumor primário sofrem transição epitelio-mesenquimal e adquirem capacidade de migrar e penetrar no vaso. No interior do vaso, as células tumorais formam rapidamente um complexo com as plaquetas ativadas, impedindo a ação das células do sistema imune, as células NK (Natural Killer), proporcionando a sobrevivência das células tumorais no vaso durante a metástase e a formação de um tumor em um sítio secundário.<sup>5</sup>



**Figura 1:** O efeito anti-P-selectina da heparina. Durante a metástase, células tumorais invadem a corrente sanguínea e, lá, interagem com plaquetas, que formam uma capa protetora, promovendo a evasão do sistema imune durante seu trânsito pela corrente sanguínea. Esta interação ocorre entre a P-selectina de plaquetas e as mucinas presentes na superfície de células tumorais (inserto A). A heparina liga-se à P-selectina e impede sua interação com seus ligantes como as mucinas de células tumorais (inserto B).

Na presença de heparina, a interação entre a P-selectina das plaquetas com as mucinas das células tumorais é inibida, evitando a formação do complexo célula tumoral-plaqueta, permitindo o ataque das células NK que destroem as células tumorais, evitando a formação do tumor no sítio secundário. Como resultado da inibição da formação do complexo célula tumoral-plaqueta, a metástase é drasticamente inibida (Figura 2) Portanto, a heparina possui um efeito terapêutico na metástase.<sup>6</sup>



**Figura 2:** Manganês (Mn<sup>2+</sup>) e migração celular. A interação do Mn<sup>2+</sup> com integrinas, expressas na superfície de uma célula estacionária, leva à mudança conformacional destas proteínas de adesão, ativando-as para a interação com seu ligante presente na matriz extracelular, a fibronectina. A formação de um complexo ternário entre integrina ativada, fibronectina e sindecam, um proteoglicano de superfície celular, tem grande importância na migração celular.

Será que a heparina utilizada atualmente na clínica é uma boa opção terapêutica no combate à progressão tumoral? Para responder a esta questão, dois pontos precisam ser considerados:

- 1- os efeitos anticoagulante e antimetastático possuem mecanismos diferentes: a ativação da antitrombina e a inibição da P-selectina, respectivamente;
- 2- o elevado risco de hemorragia associado ao tratamento com heparina.

Evidentemente, uma excelente droga antimetastática, neste contexto, deveria possuir uma elevada atividade anti-P-selectina e uma

baixa ou inexistente atividade anticoagulante. Portanto, qual seria uma alternativa adequada para uma droga antimetastática? Se quiséssemos manter a natureza glicídica desta droga, e considerando o uso frequente da heparina, poderíamos concluir que análogos de heparina com elevada atividade anti-selectina, mas desprovida de efeito anticoagulante, seria uma droga com potencial utilização terapêutica no tratamento da metástase.

### Análogos de heparina de invertebrados marinhos

Os oceanos representam cerca de 70% da superfície do planeta Terra e abriga organismos extremamente diversos, com espécies de quase todos os grupos de animais, incluindo alguns filos exclusivamente marinhos. O censo da vida marinha (<http://www.coml.org/census>) coordenado pelo The Consortium for Ocean Leadership in Washington DC, USA, estima que cerca de 230.000 espécies de animais marinhos tenham sido descritas. Durante o curso da evolução, os animais marinhos tem se adaptado às condições ambientais adversas, como elevada concentração de sais, temperaturas extremas, alta pressão, e baixa concentração de nutrientes e oxigênio. Como resultado, moléculas biológicas com características estruturais únicas, não encontradas nos seus correspondentes terrestres são sintetizadas, representando um enorme potencial de utilização em diferentes aplicações biotecnológicas na indústria e na medicina.<sup>7</sup> Dessa forma, além dos metabólitos secundários, que constituem a força motriz na área dos produtos naturais,<sup>8</sup> os invertebrados marinhos também sintetizam macromoléculas, entre elas polissacarídeos sulfatados, com estrutura semelhante à heparina de mamíferos, porém com diferentes padrões de sulfatação.

A busca por análogos de heparina com atividade biológica em invertebrados marinhos é uma atividade prospectiva recente que tem produzido uma enorme quantidade de bibliografia e que vem revelando novas moléculas com atividades biológicas diversas, como anticoagulante, antiviral, antitumoral, atividade de crescimento neuronal, entre outras (Tabela 1).

O Laboratório de Bioquímica e Biologia Celular de Glicoconjugados do IBqMLM-UFRJ identificou, em invertebrados marinhos urocordados coletados durante a Operação Antártica XXXII, a bordo do Navio Polar Maximiano, análogos de heparina com elevada atividade anti-P-selectina, baixa atividade anticoagulante e efeito hemorrágico desprezível. Por exemplo, análogos de heparina do tipo dermatam sulfato, são potentes inibidores da P-selectina e como consequência, previnem a interação células tumorais-plaquetas e atenuam drasticamente a metástase tumoral. Estas moléculas possuem baixa atividade anticoagulante e não induzem sangramento quando administrados por via intravenosa.<sup>9</sup> Concluindo, os análogos de heparina de invertebrados inibem a P-selectina e a formação do complexo-célula tumoral-plaquetas no interior do vaso sanguíneo e atenuam a metástase de carcinomas.

Este achado possui uma enorme significância clínica, como pode ser observado nos vários ensaios clínicos desenhados para estudar o efeito anticâncer de análogos de heparina, registrados no US National Institute of Health database <http://www.clinicaltrials.gov/> e US Clinical Trials Register <http://www.clinicaltrialsregister.eu/> em setembro de 2012.

No Instituto de Pesquisas Biomédicas os análogos de heparina

**Tabela 1:** Atividades biológicas de análogos de heparina de invertebrados marinhos.

Espécie	Análogo de heparina	Atividade biológica
<i>Tachypleustridentatus</i>	Condroitim sulfato supersulfatado	Atividade neuritogênica
<i>Loligosp</i>	Condroitim sulfato supersulfatado	Atividade inibitória do crescimento neuronal; Atividade inibitória de P- e L-selectina; Atividade de indução do crescimento neuronal; Atividade de inibição da infecção do vírus da Herpes
<i>Holothuriagrisea</i> ( <i>Ludwigothureagrisea</i> )	Condroitim sulfato supersulfatado	Atividade antitrombótica e anticoagulante; Atividade inibitória de P- e L-selectina; Atividade antimetastática; Atividade de indução da angiogênese
<i>Halocynthiapyriformis</i>	Condroitim sulfato supersulfatado	Atividade anticoagulante
<i>Styela clava</i>	Condroitim sulfato	Atividade anti-inflamatória
<i>Penaeus brasiliensis</i>	Heparina de baixo peso molecular	Atividade antitrombótica e anticoagulante
<i>Litopenaeusvannamei</i>	Heparina	Atividade anticoagulante; Atividade anti-inflamatória
<i>Katylisia opima</i>	heparina-“like”	Elevada atividade anticoagulante
<i>Nodipectennodosus</i>	heparina-“like”	Atividade anticoagulante; Atividade antitrombótica, Atividade anti-inflamatória; Atividade antimetastática

previamente extraídos das ascídias estão sendo identificados e mais estudos *in vitro*, além de estudos pré-clínicos *in vivo*, têm sido realizados no intuito de comprovar as hipóteses levantadas com os estudos em nível molecular.

### O manganês e a migração celular

O fenômeno da migração celular é bastante complexo e envolve a interação de moléculas de adesão localizadas tanto na superfície da célula quanto na matriz extracelular. Estas moléculas são: a integrina, molécula de adesão presente na superfície, responsável pela interação da célula com a matriz; o proteoglicano de sindecam, um análogo de heparina de superfície celular; a fibronectina, uma molécula de matriz; e o elemento manganês.

Como estas moléculas se relacionam na migração celular? Na presença de manganês, a integrina sofre uma mudança conformacional, tornando-se ativa e permitindo sua interação com a fibronectina da matriz que, por sua vez, requer o sindecam na superfície celular (Figura 2). Este complexo ternário, induzido pelo manganês permite uma reorganização do citoesqueleto celular, permitindo a migração.<sup>10</sup> Dados preliminares, não publicados, indicam que, na presença de manganês, as células tumorais migram de maneira muito mais rápida. Interessantemente, observa-se que a adição de heparina reverte o efeito indutor da migração produzido pelo manganês. Acreditamos que este efeito inibitório da heparina seja resultado do sequestro do manganês extracelular, impedindo sua interação com a integrina.

Para comprovação do papel do elemento manganês no aumento

da migração das células tumorais e consequentemente na formação da metástase, cortes histológicos de tecidos de pacientes com câncer de colón mantidos no Serviço de Patologia do HNMD têm sido analisados e relacionados com o estadiamento da doença. A confirmação desta hipótese pode gerar a inclusão da pesquisa do manganês em material de biópsia como fator preditivo da formação de metástase.

### DISCUSSÃO

As pesquisas sobre o câncer em nível molecular e celular desenvolvidas no Instituto de Bioquímica Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro são reconhecidas por meio de suas publicações em revistas científicas de grande impacto na comunidade científica internacional. Entretanto, a relevância da pesquisa se justifica quando suas descobertas, em última análise, são traduzidas em benefícios para a saúde do ser humano. É por isso que a interação da pesquisa básica da UFRJ consolida-se com a parceria que se apresenta com o Hospital Naval Marcílio Dias, por meio do Instituto de Pesquisas Biomédicas. A eficiência do Hospital no registro e manutenção dos dados de seus pacientes e o banco de amostras de tecidos permite que estudos retrospectivos sejam realizados para a comprovação dos dados obtidos *in vitro* e *in vivo* com animais de experimentação. As observações obtidas de estudos retrospectivos permitem então a realização de estudos clínicos prospectivos em pacientes atendidos no HNMD, após autorização dos mesmos. Tudo isso se traduz em elevação da excelência no atendimento, com a introdução de novas possibilidades ao arsenal terapêutico.

## CONCLUSÃO

A pesquisa translacional em saúde nasceu da necessidade de uma maior interação entre laboratório e clínica. Os achados observados em nível molecular apresentam continuidade quando os mesmos são testados e comprovados na prática médica. Neste contexto, a interação entre o IPB-HNMD e o IBqMLM-UFRJ traduz o conceito de Pesquisa Translacional Básico-Clinica ao aliar pesquisadores de diferentes áreas envolvidos desde o laboratório até a clínica médica na busca pela melhoria da saúde dos seres humanos.

## REFERÊNCIAS

1. Woolf SH. The meaning of translational research and why it matters. *JAMA*. 2008; 299(2):211-3.
2. Collins FS. Reengineering translational science: The time is right. *Sci Transl Med*. 2011 jul 6;3(90):90cm17
3. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial to mesenchymal transition. *J Clin Invest*. 2009;119(6):1420-8.
4. Kozlowski EO, Pavão MSG. Effect of sulfated glycosaminoglycans on tumor invasion and metastasis. *J Thromb Haemost*. 2011;9(9):1807-15.
5. Borsig L, Wong R, Hynes RO, Varki NM, Varki A. Synergistic effects of L- and P-selectin in facilitating tumor metastasis can evolve non-mucin ligands and implicate leukocytes as enhancers of metas-

tasis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(4):2193-8.

6. Stevenson JL, Varki A, Borsig L. Heparin attenuates metastasis mainly due to inhibition of P-selectin and L-selectin, but non-anticoagulant heparin scan have additional effects. *Thromb Res*. 2007;120(Suppl2):S107-11.

7. Haefner B. Drugs from the deep: marine natural products as drug candidates. *Drug Discov Today*. 2003;8(12):536-44.

8. Molinski TF, Dalisay DS, Lievens SL, Saludes JP. Drug development from marine natural products. *Nat Rev Discov*. 2009;8(1):69-85.

9. Kozlowski EO, Pavão MS, Borsig L. Ascidian dermatans sulfates attenuate metastasis, inflammation and thrombosis by inhibition of P-selectin. *J Thromb Haemost*. 2011;9(9):1807-15.

10. Hopkinson SB, Hamill KJ, Wu Y, Eisenberg JL, Hiroyasu S, Jones JCR. Focal contact and hemidesmosomal proteins in keratinocyte migration and wound repair. *Adv Wound Care*. 2014 Mar 1;3(3):247-63.

**Como citar este artigo:** Souza MAF, Gregório ML, Arêas ALBG, Domingues MF, Silva VAC, Farias EOK, Pavão MSG. A interação entre o Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, da UFRJ e o Instituto de Pesquisas Biomédicas, do Hospital Naval Marcílio Dias, na pesquisa translacional básico-clínica sobre a progressão tumoral. *Arq Bras Med Naval*. 2015 jan/dez;76(1):54-58.

# INTERACTION BETWEEN THE FEDERAL UNIVERSITY OF RIO DE JANEIRO AND MARCÍLIO DIAS NAVAL HOSPITAL IN THE BASIC-CLINICAL TRANSLATIONAL RESEARCH ON THE TUMOR PROGRESSION

Received on 9/4/2015

Accepted for publication on 9/10/2015

1°Ten (RM2-Md) Maria Alice Fusco de Souza <sup>1</sup>  
CF (Md) Marcelo Leal Gregório <sup>2</sup>  
CF (Md) Ana Lucia Botelho Guimarães Arêas <sup>3</sup>  
CT (S) Miguel Fontes Domingues <sup>4</sup>  
3°SG-PC Verônica de Andrade Coelho da Silva <sup>5</sup>  
Eliene Oliveira Kozlowski de Farias <sup>6</sup>  
Mauro Sérgio Gonçalves Pavão <sup>7</sup>

## ABSTRACT

This paper presents the scientific partnership between the Institute of Medical Biochemistry Leopoldo de Meis (IBqMLM) of the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ) and the Institute of Biomedical Research (IPB) of Marcilio Dias Naval Hospital (HNMD). More specifically, it describes the research lines of the IBqMLM related to the tumor progression in molecular basis as well as the next steps to be developed in IPB by *in vitro* and *in vivo* analysis targeting, in the near future, the use of scientific discoveries in the field of clinical practice. The partnership IPB/IBqMLM reflects the principle of translational research which the laboratory findings are translated into new medical practices with the ultimate goal of prevention, diagnosis and treatment of diseases.

**Keywords:** *Translational medical research; Neoplasm metastasis; Urochordata; Epithelial-mesenchymal transition; Manganese.*

## INTRODUCTION

In a general context, translational research is the process of turning observations obtained in the laboratory, clinical and community into interventions that ultimately improve the health of individuals and the public-from diagnosis and therapeutics to the medical procedures (according to the "National Center for Advancing Translational Science" - NIH-USA). However, from the basic-clinical point of view, translational research can contemplate three phases: the study of the molecular basis involved in a particular disease through *in vitro* assays; preclinical studies, where in molecular bases *in vitro* investigated are evaluated using laboratory animal models, *in vivo*; and clinical studies, where in the molecular basis of diseases investigated through *in vitro* and *in vivo* assays are tested in humans.<sup>1</sup>

From an operational point of view, translational research should include the participation of biomedical researchers with solid basic-molecular qualification; who came from a institution that offers a basic research infrastructure; institution that, in turn, has a multidisciplinary professional structure of physicians with research concerns; and finally, adequate healthcare infrastructure, a database of patients and a tissue bank of bio-samples (especially important when it comes to retrospective studies).<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Veterinary Doctor. Doctor of Sciences, Faculty of Medicine - UFRJ. Experimental Surgery Section of helper Institute of Biomedical Research (IPB) of Marcilio Dias Naval Hospital. E-mail: alicefusco@hnmd.mar.mil.br

<sup>2</sup> Doctor. Specialization Observership the Cleveland Clinic Florida, USA. Responsible for the Institute of Biomedical Research (IPB) of Marcilio Dias Naval Hospital.

<sup>3</sup> Doctor. Head of the Pathology Department of Marcilio Dias the Naval Hospital.

<sup>4</sup> Pharmacist. Pathology Department assistant Marcilio Dias Naval Hospital.

<sup>5</sup> Pharmacist. Supervisory Sector Histotecnologia of Pathology Department of Marcilio Dias Naval Hospital.

<sup>6</sup> Visiting Professor at the Institute of Medical Biochemistry Leopoldo de Meis, Health Sciences Center - UFRJ.

<sup>7</sup> Associate Professor at the Institute of Medical Biochemistry Leopoldo de Meis, Health Sciences Center - UFRJ.