

# Ciências Biológicas:

**DESENVOLVIMENTO EM PESQUISAS APLICADAS**



Jordany Gomes da Silva  
Patrícia Gonçalves de Freitas  
Organizadores



2021

# Ciências Biológicas:

**DESENVOLVIMENTO EM PESQUISAS APLICADAS**



Jordany Gomes da Silva  
Patrícia Gonçalves de Freitas  
Organizadores



2021

---

2021 by Editora e-Publicar  
Copyright © Editora e-Publicar  
Copyright do Texto © 2021 Os autores  
Copyright da Edição © 2021 Editora e-Publicar  
Direitos para esta edição cedidos à Editora e-  
Publicar pelos autores

**Editora Chefe**  
Patrícia Gonçalves de Freitas  
**Editor**  
Roger Goulart Mello  
**Diagramação**  
Roger Goulart Mello  
**Projeto gráfico e Edição de Arte**  
Patrícia Gonçalves de Freitas  
**Revisão**  
Os autores

## **CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: DESENVOLVIMENTO EM PESQUISAS APLICADAS, VOL. 1**

Todo o conteúdo dos capítulos, dados, informações e correções são de responsabilidade exclusiva dos autores. O download e compartilhamento da obra são permitidos desde que os créditos sejam devidamente atribuídos aos autores. É vedada a realização de alterações na obra, assim como sua utilização para fins comerciais.

A Editora e-Publicar não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

### **Conselho Editorial**

Alessandra Dale Giacomini Terra – Universidade Federal Fluminense  
Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa  
Andrelize Schabo Ferreira de Assis – Universidade Federal de Rondônia  
Bianca Gabriely Ferreira Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
Cristiana Barcelos da Silva – Universidade do Estado de Minas Gerais  
Cristiane Elisa Ribas Batista – Universidade Federal de Santa Catarina  
Daniel Ordane da Costa Vale – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais  
Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes  
Dayanne Tomaz Casimiro da Silva - Universidade Federal de Pernambuco  
Diogo Luiz Lima Augusto – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro  
Elis Regina Barbosa Angelo – Pontifícia Universidade Católica de São Paulo  
Ernane Rosa Martins - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás  
Fábio Pereira Cerdera – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Francisco Oricelio da Silva Brindeiro – Universidade Estadual do Ceará  
Glaucio Martins da Silva Bandeira – Universidade Federal Fluminense  
Helio Fernando Lobo Nogueira da Gama - Universidade Estadual De Santa Cruz  
Inaldo Kley do Nascimento Moraes – Universidade CEUMA  
João Paulo Hergesel - Pontifícia Universidade Católica de Campinas  
Jose Henrique de Lacerda Furtado – Instituto Federal do Rio de Janeiro



Jordany Gomes da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
Jucilene Oliveira de Sousa – Universidade Estadual de Campinas  
Luana Lima Guimarães – Universidade Federal do Ceará  
Luma Mirely de Souza Brandão – Universidade Tiradentes  
Mateus Dias Antunes – Universidade de São Paulo  
Milson dos Santos Barbosa – Universidade Tiradentes  
Naiola Paiva de Miranda - Universidade Federal do Ceará  
Rafael Leal da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Rita Rodrigues de Souza - Universidade Estadual Paulista  
Willian Douglas Guilherme - Universidade Federal do Tocantins

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

C569 Ciências biológicas [livro eletrônico] : desenvolvimento em pesquisas aplicadas: volume 1 / Organizadoras Jordany Gomes da Silva, Patrícia Gonçalves de Freitas. – Rio de Janeiro, RJ: e-Publicar, 2021.

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-65-89950-58-5

1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Silva, Jordany Gomes da. II. Freitas, Patrícia Gonçalves de.

CDD 570.7

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

**Editora e-Publicar**  
Rio de Janeiro – RJ – Brasil  
contato@editorapublicar.com.br  
www.editorapublicar.com.br



2021

# Apresentação

As ciências biológicas tem cada dia mostrado novos campos para pesquisa, e cabe cada profissional eleger sua inquietude como problemática a ser respondida. Sendo assim, ela busca discutir sobre os fatores nutricionais adequados ao ser humano, distúrbios relacionados ao sono, identificação de microbiota intestinal e sua ligação com patologias cerebrais, estudos sobre imunizantes e soroterapia, novas técnicas de enxertia óssea, estudos sobre toxicidade em microbiológicos, vegetais e plantas.

As pesquisas aplicadas em ciências biológicas busca também elucidar os fatores mutagênicos em plantas e animais, aspectos sobre poluição da água, maturação visual, identificação de novas drogas com atividades antibacterianas, antineoplásicas, antioxidante e anticarcinogênica. Sempre é bom apreciar um relato de caso, pois sua experiência não pode ser a mesma, mas existem situações parecidas e uma boa leitura ajuda.

A utilização de novas tecnologias em busca de tratamento de feridas (no caso de cicatrização), na área de estomaterapia e busca constante de novos produtos orgânicos, tudo é bem evidente pela busca de melhores formas de tratamento e com resultados que possam atender a perspectiva do cliente, não deixemos de citar sua contribuição na avaliação dos praticantes de esportes, orientando sobre a melhor forma nutricional, ergonômica, econômica e social.

Espero que esta obra possa ser de grande valia para sua busca por conhecimento. Que ela não permaneça somente nas telas dos acessos remotos, mas que seja aplicada e lembrada por cada leitor.

Boa leitura.

**Inaldo klêy do Nascimento Moraes**

# Sumário

CAPÍTULO 1 .....	12
O PAPEL DA NUTRIÇÃO ADEQUADA PARA O DESENVOLVIMENTO HUMANO... 12	
Edizângela de Fátima Cruz de Souza	
Roberta Maria de Sousa Alexandre	
Gabriella Medeiros Silva	
Natanael Antonio dos Santos	
CAPÍTULO 2 .....	23
MICROORGANISMOS SIMBIONTES RELACIONADOS A MICROBIOTA DE	
PACIENTES COM A DOENÇA DE ALZHEIMER .....	23
Alexandre Moreira de Almeida	
Isabela Cristina de Oliveira Campos	
Renata Matuo	
CAPÍTULO 3 .....	35
ANÁLISE DA SAZONALIDADE DA PROFILAXIA DO TÉTANO NO HOSPITAL DE	
PRONTO SOCORRO DE JUIZ DE FORA (HPS) - MINAS GERAIS.....	34
Marcelo Barros Weiss	
Sergio Ibañez Nunes	
Thais Barros Corrêa Ibañez	
Marcos Guimarães de Souza Cunha	
Mariana Silva Cunha	
Jorge Wilson Souza Paiva	
Mauro de Sousa Junqueira	
Douglas Barros Corrêa	
CAPÍTULO 4 .....	43
ANÁLISE DA SAZONALIDADE DA PROFILAXIA DA RAIVA NO HOSPITAL PRONTO	
SOCORRO DE JUIZ DE FORA (HPS) - MINAS GERAIS.....	43
Marcelo Barros Weiss	
Sergio Ibañez Nunes	
Thais Barros Corrêa Ibañez	
Marcos Guimarães de Souza Cunha	
Mariana Silva Cunha	
Jorge Wilson Souza Paiva	
Mauro de Sousa Junqueira	
Douglas Barros Corrêa	

<b>CAPÍTULO 5</b> .....	52
EFEITOS DA TERAPIA A LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA CICATRIZAÇÃO DE INCISÕES CIRÚRGICAS NA PELE DE RATOS .....	52
	Sergio Ibañez Nunes Thais Barros Corrêa Ibañez Marcelo Barros Weiss Marcos Guimarães de Souza Cunha Mariana Silva Cunha Douglas Barros Corrêa
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	72
VIABILIDADE DO ENXERTO DE OMENTO-MAIOR SOBRE O OSSO IN VIVO EM RATOS .....	72
	Sergio Ibañez Nunes Thais Barros Corrêa Ibañez Marcelo Barros Weiss Marcos Guimarães de Souza Cunha Mariana Silva Cunha Douglas Barros Corrêa
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	89
ESTUDOS IN SILICO DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS, FARMACODINÂMICAS, DE TOXICIDADE DE DERIVADOS PIRAZOL-ORGANOCALCOGÊNIOS (Se, S).....	89
<b>DOI: 10.47402/ed.ep.c202172121523</b>	Ianka jacondino Nunes Danielle Tapia Bueno Wesley Vieira Ferreira Adriana Castro Pinheiro
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	104
ANÁLISE DA FITOPROTEÇÃO DO $\alpha$ -BISABOOL CONTRA TOXICIDADE DO CLORETO DE MERCÚRIO (HgCl <sub>2</sub> ) .....	104
<b>DOI: 10.47402/ed.ep.c20217227585</b>	Agledison Vieira do Nascimento Janáina Esmeraldo Rocha Camila Fonseca Bezerra Thiago Sampaio de Freitas João Tavares Calixto Júnior Henrique Douglas Melo Coutinho Aracélio Viana Colares
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	122
PRODUÇÃO E USO DO SABONETE ORGÂNICO DE AROEIRA COMO ALTERNATIVA PARA O CONSUMO VERDE .....	122
<b>DOI: 10.47402/ed.ep.c20217238585</b>	Adão Nilson Carneiro Braga Junior Klayriene Sebastiana Alves Soares Maria Aparecida Vieira dos Santos Soares Max Wagno Mascarenhas dos Santos Diogo Augusto Frota de Carvalho

CAPÍTULO 10 .....	134
DISTÚRBIOS NO CICLO SONO-VIGÍLIA E SUAS CONSEQUÊNCIAS NA DOENÇA DE ALZHEIMER .....	134

**DOI: 10.47402/ed.ep.c20217249585**

Gabriel José Guedes Quirino  
Dara da Silva Mesquita  
José Eduardo Ribeiro Honório Júnior  
Gislei Frota Aragão

CAPÍTULO 11 .....	149
CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS, DE COMPOSIÇÃO CORPORAL E DA CAPACIDADE AERÓBICA DE UM TIME DE FUTEBOL DE CAMPO SUB-19 .....	149

**DOI: 10.47402/ed.ep.c202172510585**

Katharyna Oliveira Sousa  
Matheus Felipe Joshua Silva Lopes  
Rafael Dos Santos Coelho  
Thamyris da Silva Carvalho  
Poliane Dutra Alvares  
Andrea Dias Reis  
Surama do Carmo Souza da Silva

CAPÍTULO 12 .....	159
ÚTERO BICÓRNEO ASSOCIADO A PARTOS PREMATUROS: RELATO DE CASO. 159	

**DOI: 10.47402/ed.ep.c202172611585**

Hilka Quinelato  
Carina Duarte Martins  
Miriam Beatriz Jordão Moreira Sarruf  
Valquiria Quinelato

CAPÍTULO 13 .....	173
ESTUDO FITOQUÍMICO E TOXICOLÓGICO DE FOLHAS DE <i>Terminalia catappa</i> L. E FRUTOS DE <i>Schinus terebinthifolius</i> R. ....	173

**DOI: 10.47402/ed.ep.c202172712585**

Gabriela de Cássia Javorski  
Wellington Luciano Braguini

CAPÍTULO 14 .....	195
DOENÇAS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA: REVISÃO DE LITERATURA .....	195

Kênia Kelly Freitas Sarmiento  
José Everton Soares de Sousa  
Vanessa Rosales Bezerra  
Karyna Steffane da Silva  
Keila Machado de Medeiros  
Carlos Antônio Pereira de Lima

CAPÍTULO 15 .....	205
DESENSOLVIMENTO E MATURAÇÃO DO SISTEMA VISUAL NA INFÂNCIA .....	205

Roberta Maria de Sousa Alexandre  
Edizângela de Fátima Cruz de Souza  
Gabiella Medeiros Silva  
Natanael Antonio dos Santos

CAPÍTULO 16.....	213
POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE <i>Moringa oleifera</i> Lam.: UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	213

**DOI: 10.47402/ed.ep.c202172813585**

David de Oliveira Medeiros  
Letícia Carvalho Benitez

CAPÍTULO 17.....	234
ANÁLISE TOXICOLÓGICA DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>ASPIDOSPERMA PYRIFOLIUM</i> (APOCYNACEAE) EM <i>ALLIUM CEPA</i> E <i>MUS MUSCULUS</i> .....	234

**DOI: 10.47402/ed.ep.c202172916585**

Edigleyce de Lima Costa Menezes  
Eliezer Fernandes da Silva Filho  
José Carlos da Silveira Pereira  
Naama Jessica de Assis Melo  
Maria Vitória Dantas Sampaio  
Marcela Vitória Dantas Sampaio  
Francisca Vitória Amaral Nóbrega  
Marcos Antonio Nobrega de Sousa

CAPÍTULO 18.....	252
POTENCIAL TÓXICO, CITOTÓXICO E MUTAGÊNICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Licania rigida</i> (CHRYSOBALANACEAE) EM CÉLULAS <i>IN VIVO</i> .....	252

**DOI: 10.47402/ed.ep.c202173017585**

Naama Jessica de Assis Melo  
Edigleyce de Lima Costa Menezes  
Eliezer Fernandes da Silva Filho  
José Carlos da Silveira Pereira  
Thaís Lucena de Oliveira  
Matheus Medeiros Nunes  
Francisca Vitória Amaral Nóbrega  
Marcos Antonio Nobrega de Sousa

CAPÍTULO 19.....	267
INFLUÊNCIA DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>IPOMOEA ASARIFOLIA</i> (CONVOLVULACEAE) EM RAÍZES DE <i>ALLIUM CEPA</i> E CÉLULAS DE CAMUNDONGOS.....	267

**DOI: 10.47402/ed.ep.c202173118585**

Eliezer Fernandes da Silva Filho  
Edigleyce de Lima Costa Menezes  
José Carlos da Silveira Pereira  
Naama Jessica de Assis Melo  
Maria Vitória Dantas Sampaio  
Marcela Vitória Dantas Sampaio  
Francisca Vitória Amaral Nóbrega  
Marcos Antonio Nobrega de Sousa

<b>CAPÍTULO 20</b> .....	277
ESTUDO DO POTENCIAL CITOTÓXICO, GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>Tabebuia aurea</i> EM CÉLULAS DE <i>Allium cepa</i> .....	277
<b>DOI: 10.47402/ed.ep.c202173219585</b>	
	Cecília Ruth Fernandes da Silva Naama Jessica de Assis Melo Edigleyce de Lima Costa Menezes Eliezer Fernandes da Silva Filho José Carlos da Silveira Pereira Matheus Medeiros Nunes Francisca Vitória Amaral Nóbrega Marcos Antonio Nobrega de Sousa
<b>CAPÍTULO 21</b> .....	297
ANÁLISE DE GENOTOXIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Aspidosperma pyrifolium</i> MART. E <i>Combretum leprosum</i> MART. EM <i>Allium cepa</i> .....	297
<b>DOI: 10.47402/ed.ep.c202173320585</b>	
	José Carlos da Silveira Pereira Edigleyce de Lima Costa Menezes Eliezer Fernandes da Silva Filho Naama Jessica de Assis Melo Maria Vitória Dantas Sampaio Marcela Vitória Dantas Sampaio Francisca Vitória Amaral Nóbrega Marcos Antonio Nobrega de Sousa
<b>CAPÍTULO 22</b> .....	308
POTENCIAL TÓXICO, GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>CAESALPINIA PYRAMIDALIS</i> EM <i>ALLIUM CEPA</i> .....	308
<b>DOI: 10.47402/ed.ep.c202173421585</b>	
	Idineide Lidiane Silva Naama Jessica de Assis Melo Edigleyce de Lima Costa Menezes Eliezer Fernandes da Silva Filho José Carlos da Silveira Pereira Thaís Lucena de Oliveira Francisca Vitória Amaral Nóbrega Marcos Antonio Nobrega de Sousa
<b>CAPÍTULO 23</b> .....	329
ESTUDO ETNOBOTÂNICO ACERCA DO USO MEDICINAL DE <i>Moringa oleifera</i> L. POR MORADORES DO SÍTIO SOLEDADE, AURORA – CE/BRASIL .....	329
	Ranielly Ferreira de Sousa Leticia Carvalho Benitez
<b>CAPÍTULO 24</b> .....	342
PERCEPÇÃO DE ESFORÇO E FORÇA SUBMÁXIMA EM MULHERES IDOSAS.....	342
<b>DOI: 10.47402/ed.ep.c202173522585</b>	
	Surama do Carmo Souza da Silva Flavio de Oliveira Pires Otávio Carvalho Sousa Marcus Alexandre Melo Christian Emmanuel Torres Cabido Richard Diego Leite



# CAPÍTULO 1

## O PAPEL DA NUTRIÇÃO ADEQUADA PARA O DESENVOLVIMENTO HUMANO

**Edizângela de Fátima Cruz de Souza**, Graduanda em Psicologia, UFPB, João Pessoa, Paraíba  
**Roberta Maria de Sousa Alexandre**, Graduanda em Psicologia, UFPB, João Pessoa, Paraíba  
**Gabriella Medeiros Silva**, Mestranda em Psicologia Social, UFPB, João Pessoa, Paraíba  
**Natanael Antonio dos Santos**, Professor titular do Departamento de Psicologia, UFPB, João Pessoa, Paraíba

### RESUMO

A nutrição corresponde a uma temática importante para a sociedade, principalmente pelo fato de grande parte das pessoas se alimentarem de forma inadequada, podendo acarretar em dois problemas de saúde pública: obesidade ou desnutrição. A obesidade se relaciona com o acúmulo de gordura no organismo, enquanto a desnutrição se refere a déficits de nutrientes, tendo sido o segundo ponto mais focado no estudo. Nesse sentido, o objetivo do presente capítulo foi discutir o papel da nutrição adequada para o desenvolvimento humano, revelando as alterações da malnutrição na vida do indivíduo. Para tanto, foi realizada uma revisão narrativa, que buscou explorar as principais ideias da temática e a sua relação com aspectos do desenvolvimento do indivíduo. Os resultados apontaram que a infância é um período de maior susceptibilidade de influências externas do ser humano, fazendo com que mereça um destaque mais específico. Além disso, observou-se a importância do aleitamento materno, que proporciona condições para que a criança possa se desenvolver adequadamente. Os déficits de nutrientes também foram abordados, como no desenvolvimento cerebral, cognitivo, físico e motor. Portanto, foi possível compreender a importância da nutrição adequada para o desenvolvimento e oferecer informações necessárias para estudos futuros.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nutrição; desnutrição; desenvolvimento infantil.

### INTRODUÇÃO

A nutrição pode impactar significativamente no desenvolvimento do indivíduo, principalmente na infância, devendo incluir o consumo adequado de nutrientes, vitaminas e minerais responsáveis pelo funcionamento do organismo (PRADO et al., 2011). No entanto, a ingestão inadequada dessas substâncias pode provocar alterações em funções do desenvolvimento, na sua saúde e no seu bem-estar. Além disso, também pode ser compreendida a partir da perspectiva de questões relacionadas ao sobrepeso e ao baixo peso corporal, que contribuem para o crescimento de doenças crônicas (COUTINHO; GENTIL; TORAL, 2008).

O sobrepeso e/ou a obesidade diz respeito ao acúmulo de tecido adiposo no organismo e pode ser considerada uma questão de saúde pública, visto que atinge cerca de 40% da

população mundial e está aumentando aceleradamente (OMS, 2018). Isso pode estar acontecendo devido à prevalência do sedentarismo e aos padrões alimentares da atualidade, em que, pela dinamicidade da vida contemporânea, as pessoas se voltam ao consumo de comidas ricas em sódio, açúcares e gorduras do que uma alimentação saudável a partir de preparações caseiras, alimentos *in natura* e uma dieta equilibrada (MONTEIRO; LOUZADA, 2015).

A obesidade também pode ser representada como um fator de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas, como a diabetes mellitus, doenças cardiovasculares (ex: hipertensão) e problemas respiratórios, o que pode elevar o risco de mortalidade na vida adulta decorrentes dessas doenças (CANOY et al., 2013). Além disso, a obesidade pode estar relacionada a alterações fisiológicas e metabólicas, fazendo com que isso reflita na composição corporal e na qualidade de vida do indivíduo (ROOPAKALA et al., 2009).

Assim como a obesidade, a desnutrição também pode ser considerada um problema de saúde pública e vai se referir à baixa ingestão de nutrientes necessários para que o organismo funcione de forma adequada (MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002). A desnutrição apresenta múltiplas causas. A principal delas decorre de questões relacionadas à pobreza e à desigualdade social, quando as pessoas não possuem condições socioeconômicas para se alimentarem de forma suficiente. Entretanto, a desnutrição também pode ocorrer em detrimento de fatores como partos prematuros, infecções repetidas ou desnutrição intrauterina e pós-natal (BISCEGLI et al., 2007).

Sendo assim, a desnutrição pode levar a consequências negativas no sistema cognitivo, como atraso mental, no crescimento e no neurodesenvolvimento e baixa capacidade de resolução de problemas. Também pode afetar o tamanho do indivíduo, a aparência física, como olhos fundos, baixo peso e atraso no crescimento, nas atividades motoras, assim como no sistema imunológico, fazendo com que tenha muitos riscos de infecções graves, e até mesmo de mortalidade infantil (PACHECO; DALEPRANE; BOAVENTURA, 2007). Dessa forma, a desnutrição pode ser considerada uma das mais importantes causas externas que provocam alterações no desenvolvimento das crianças (MONTEIRO, 2003).

Nesse sentido, o objetivo desse capítulo foi realizar uma revisão narrativa de artigos que evidenciem o papel da nutrição adequada para o desenvolvimento, relevando alterações da malnutrição na vida do indivíduo, enfocando principalmente essas questões relacionadas à desnutrição, devido a, como mencionado, corresponder a uma das causas externas mais relevantes que afetam o desenvolvimento infantil. Ainda, destaca-se a relevância de tal estudo,

visto que é uma realidade bastante presente no Brasil, podendo auxiliar na compreensão acerca da temática e subsidiar posteriores intervenções, sendo assim, faz-se necessário explorar as principais ideias sobre isso.

## **MÉTODO**

Para alcançar o objetivo proposto, foi realizada uma revisão narrativa de 35 artigos entre os anos de 2000-2018. Esse tipo de procedimento abarca publicações mais amplas e apresenta um menor rigor científico por não utilizar critérios sistemáticos, no entanto, contribui significativamente para o entendimento do estado da arte da temática, promovendo atualizações para o conhecimento científico (ROTHER, 2007). Assim, esse estudo abordará pontos sobre a nutrição na primeira infância e sua relação com aspectos do desenvolvimento do indivíduo, como nas áreas: cerebral, cognitivo, físico e motor.

## **NUTRIÇÃO NA PRIMEIRA INFÂNCIA**

A nutrição é de extrema importância durante toda a vida do indivíduo, mas a infância merece ser destacada, visto que essa fase, principalmente nos primeiros 24 meses de idade, é considerada o período crítico para o desenvolvimento e crescimento adequados do ser humano (LIMA et al., 2012). Ou seja, é durante a infância que o indivíduo será mais susceptível a determinadas influências externas, em que os padrões alimentares podem influenciar no crescimento da criança de forma positiva, fazendo com que se desenvolva adequadamente, ou de forma negativa, provocando alterações no seu desenvolvimento (WEFFORT, 2013). Além disso, a nutrição precoce apresenta forte influência na função fisiológica, na maturação do sistema imunológico e em aspectos do desenvolvimento da criança (GARWONLINSKA et al., 2018).

Nessa direção, o leite materno é visto como o alimento mais completo para assegurar o crescimento e desenvolvimento saudável para os bebês, uma vez que proporciona nutrientes necessários, como carboidratos, proteínas, lipídios e vitaminas, e compostos bioativos e elementos interativos, como fatores de crescimento e hormônios (GARWONLINSKA et al., 2018). Esses componentes são encontrados no leite materno em composição e condições ideais, contribuindo para que os elementos obtidos pela criança sejam aproveitados de forma mais eficiente e para um processo digestivo mais harmônico (ANTUNES, 2008).

A amamentação, então, pode favorecer o desenvolvimento de estruturas ósseas, psicológicas e neurológicas, assim como proteger de infecções respiratórias, diminuição da mortalidade infantil, prevenção de doenças crônicas e ausência de sobrecarga renal (RAMOS;

STEIN, 2000). Por isso, estudos apontam a importância do leite materno como o único alimento até o sexto mês de vida, como constatado por Marques, Lopes e Braga (2004), que avaliaram 102 crianças em amamentação exclusiva, encontrando que esses sujeitos tiveram um crescimento adequado, com a evolução do peso dentro do que se espera para idade, confirmando os benefícios nutricionais do leite materno.

No entanto, apesar de toda a importância, ainda existem muitas crianças que não são alimentadas com leite materno por diversos fatores, como a falta de reconhecimento por parte da população e até por profissionais da saúde; ou quando as mães não querem e/ou não podem amamentar, fazendo com que precocemente sejam utilizados complementos como o aleitamento artificial (BRASIL, 2002). Esse método diz respeito ao uso de instrumentos como a mamadeira com leite de origem animal, em que, embora a satisfação da fome seja mais rápida, a criança pode não obter as vantagens nutricionais do aleitamento natural e apresentar prejuízos, a exemplo de questões relacionadas à sucção por não precisar fazer esforço (MEDEIROS; FERREIRA; FELÍCIA, 2009).

A partir dos sete meses de idade, além do leite materno, os bebês devem começar a ser introduzidos a alimentos complementares, que precisam ser ricos em nutrientes, zinco, cálcio e vitaminas, com consistência adequada para idade, evitando alimentos processados com altos níveis de sódio e açúcares (BRASIL, 2002). Por volta dos dois anos de vida, a criança já apresenta mais autonomia e socialização, com isso, pode rejeitar determinados tipos de alimentos, sendo necessário que os pais e/ou responsáveis estimulem e desenvolvam na criança padrões alimentares saudáveis (EUCLYDES, 2005).

## **DESENVOLVIMENTO CEREBRAL**

Para o cérebro funcionar adequadamente ao longo da vida do indivíduo, é preciso que essa área tenha tido condições para ter se desenvolvido, principalmente, desde o início da vida, levando em consideração que o desenvolvimento do cérebro do ser humano começa a partir da embriogênese. Tendo em vista isso, influências externas desde esse momento podem comprometer funções neurais, incluindo as deficiências nutricionais, que podem perturbar a organização estrutural e bioquímica de processos como a mielinização (GUEDES; ROCHA-DE-MELO; TEODÓSIO, 2004).

Nesse sentido, é necessário ressaltar que os prejuízos nos processos neurais decorrentes de déficits nutricionais dependem basicamente do momento do déficit de nutrientes e a necessidade da região por determinado nutriente nesse momento. Isto é, se uma região do

organismo estiver precisando de certo nutriente e não tiver acesso nesse período (ex: a necessidade do ferro em crianças até 24 meses e em mulheres menstruadas), as alterações podem ser mais significativas (LOZZOF et al., 2006). Além disso, apesar de todos os nutrientes terem importância no desenvolvimento cerebral, alguns podem produzir efeitos mais expressivos nos momentos iniciais, então, os déficits desses nutrientes também vão provocar alterações mais expressivas ao longo do desenvolvimento (CUSICK; GEORGIEFF, 2016).

Logo, podem-se citar alguns desses nutrientes que afetam o desenvolvimento inicial do cérebro. Em relação aos macronutrientes, o déficit de proteína no início da vida pode resultar em cérebros menores com conteúdos reduzidos de RNA e DNA, menos neurônios e concentrações reduzidas de neurotransmissores e fatores de crescimento (KE et al., 2006). Já a suplementação de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA) durante a gestação, amamentação e início da vida pode estar associada a melhoras no sistema visual e em áreas córtex pré-frontal que medeiam a atenção, produzindo efeitos em longo prazo (DELGADO-NOGUERA et al., 2015).

Os micronutrientes também podem afetar o desenvolvimento inicial do cérebro, a exemplo do ferro, que apresenta papel relevante nas hemoproteínas e enzimas não heme, desenvolvimento anatômico típico do cérebro fetal, mielinização e desenvolvimento e função de sistemas neurais (TRAN et al., 2015). Já o zinco é necessário para neurogênese, migração neuronal e sinaptogênese, a falta dele pode resultar alterações na atenção e memória (ADAMO; OTEIZA, 2010). Por último, o iodo tem efeito fundamental na síntese no hormônio da tireoide, e sua deficiência durante o pré-natal provoca déficits na sinalização glutamatérgica e peso cerebral (NAVARRO et al., 2015).

## **DESENVOLVIMENTO COGNITIVO**

A literatura demonstra relação entre uma nutrição adequada e uma função cognitiva ideal, principalmente no que tange à fase infantil. Contudo, é necessário destacar que deficiências em determinados nutrientes também podem afetar o desenvolvimento cognitivo dos indivíduos (NYARADI et al., 2013).

Assim, os estudos que enfocaram essa temática são mais voltados ao impacto dos micronutrientes individuais no desenvolvimento cognitivo. Por exemplo, foram encontradas evidências de que a ingestão de peixe, que contém grande quantidade de ácidos graxos ômega-3, pela mãe durante a gestação, foi associada a maiores habilidades sociais, de linguagem e de memória pelos filhos, mesmo com riscos de contaminação por mercúrio (BOUCHER et al.,

2011; HIBBELN et al., 2007). Isso também foi percebido quando se observou a suplementação de ácido graxo ômega-3 a partir de óleo de peixe em mães lactantes, visto que as crianças que foram amamentadas pelo leite materno tiveram efeitos positivos no seu desenvolvimento cognitivo (HOFFMAN et al., 2009).

Outro micronutriente que pode ser mencionado é a vitamina B12. Deficiências nesse micronutriente, principalmente durante a gravidez, podem envolver mielinização retardada ou desmielinização dos nervos; alteração na relação S-adenosilmetionina: S-adenosilhomocisteína, assim como desequilíbrio de citocinas neurotróficas e neurotóxicas; e / ou acúmulo de lactato nas células cerebrais. Foi constatada uma relação com o desenvolvimento cognitivo em bebês de mães vegetarianas, veganas ou que se alimentavam à base de uma dieta macrobiótica, visto que produtos de origem animal são ricos em vitamina B12 (DROR; ALLEN, 2008). Exemplos de funções cognitivas que podem ser afetadas pela deficiência de vitamina B12 são a memória de curto prazo e atenção sustentada (VEENA et al., 2010).

Apesar de grande parte dos estudos investigarem os micronutrientes individuais, também se faz necessário compreender na totalidade, uma vez que as deficiências nutricionais não ocorrem isoladamente, como por exemplo, em crianças desnutridas em países subdesenvolvidos. Nesse sentido, a suplementação de múltiplos nutrientes em mães desnutridas durante a gestação pode influenciar positivamente aspectos do desenvolvimento cognitivo das crianças, como a atenção visual e habilidade espacial (PRADO et al, 2012).

## **DESENVOLVIMENTO FÍSICO**

O crescimento físico constitui como um indicador relevante para avaliar a saúde do indivíduo, visto que pode traçar padrões de monitoramento do desenvolvimento. Sendo assim, pode-se observar se o padrão da criança está compatível com outras do mesmo sexo e idade, levando em consideração o contexto em que ela está inserida. Somado a isso, o crescimento físico depende bastante de fatores externos, como o estado nutricional, que reflete as condições de vida da criança e do seu desenvolvimento (MACHADO et al., 2011).

Tendo em vista que a gestação pode impactar no desenvolvimento da criança, é importante destacar que a desnutrição materna associada às condições de vida e à assistência pré-natal precária pode refletir no atraso do crescimento intrauterino, baixo peso ao nascer e menor crescimento físico da criança, fazendo com que essas consequências possam se estender por vários anos (MOTTA et al., 2005). Isso contribui para que essas crianças se tornem mais

vulneráveis a fatores pós-natais, podendo se manter com o crescimento físico abaixo das crianças com o desenvolvimento adequado (MAMABOLO et al., 2004).

Além disso, associada às condições socioeconômicas e introdução de alimentação inadequada, essas crianças desnutridas podem estar mais vulneráveis a infecções e doenças, especialmente a diarreia, enfraquecendo o seu sistema imunológico e interferindo na absorção de nutrientes (CHECKLEY et al., 2004). No entanto, esses déficits no crescimento que acontecem no primeiro ano de vida podem ser evitados se as crianças forem amamentadas exclusivamente por leite materno e, posteriormente, receberem alimentação complementar adequada (MOTTA et al., 2005).

## **DESENVOLVIMENTO MOTOR**

Assim como os outros aspectos do desenvolvimento, a parte motora também pode ser influenciada pelo estado nutricional do sujeito. O desenvolvimento motor é um processo contínuo e dinâmico, em que o indivíduo adquire habilidades, progredindo de movimentos mais simples até os mais complexos e organizados (GETCHELL; HAYWOOD, 2004). Nessa direção, crianças que apresentam comprometimentos em áreas das suas habilidades motoras, podem permanecer com essas alterações até a sua vida adulta, o que faz com que demandem atenção particular (MANSUR; NETO, 2006).

Dessa forma, estudos apontaram que as crianças com processo de desnutrição em fases avançadas podem apresentar atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (FRÔNIO *et al.*, 2011; SAYEGH; LIMA, 2008). Esses déficits de nutrientes podem prejudicar e retardar as atividades motoras das crianças, principalmente se tiverem histórico de nutrição inadequada, como mãe desnutrida durante a gestação. Isso faz com que o corpo possa perder rigidez nas fibras musculares e interferir no seu desenvolvimento motor, ou seja, alterações na atividade locomotora e em propriedades do músculo esquelético (BARROS et al., 2006).

Além disso, a desnutrição pode acarretar na redução do comportamento exploratório, em que, devido ao tamanho do corpo e à fraqueza muscular, a criança pode ter dificuldades para se locomover e adquirir habilidades motoras, prejudicando significativamente seu desenvolvimento motor (MANSUR; NETO, 2006). Provavelmente, por essa razão, essas crianças recebem menos estimulação ambiental, em termos de quantidade e qualidade, quando se compara com crianças da mesma idade sem déficits nutricionais, fazendo com que o desempenho motor seja consideravelmente menor (FRÔNIO et al., 2011).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente capítulo demonstrou a importância de se estudar sobre a nutrição adequada, principalmente na infância, uma vez que é uma fase que influencia bastante no desenvolvimento do indivíduo, em que comprometimentos podem se prolongar até a vida adulta. Além disso, nesse estudo, também foi possível compreender a relação entre a nutrição e aspectos do desenvolvimento, tendo sido visto o impacto da malnutrição, principalmente de déficits de nutrientes em áreas e propriedades do organismo, assim como os efeitos da nutrição adequada, como o aleitamento materno, em que proporciona condições e componentes para a criança se desenvolver de acordo com a sua idade. Portanto, o estudo atingiu o objetivo proposto, auxiliando na compreensão sobre o assunto.

Entretanto, por se tratar de uma revisão narrativa e não de uma revisão sistemática, esse estudo pode ter apresentado algumas limitações, como a carência de integração de informações de modo sistematizado e a produção de evidências científicas a respeito do papel da nutrição adequada para o desenvolvimento. Dessa maneira, dificulta a reprodução dos resultados. Como perspectiva futura, sugere-se a realização de uma revisão sistemática que integre os efeitos de desnutrição em todos os aspectos do desenvolvimento humano.

## REFERÊNCIAS

- ADAMO, A. M.; OTEIZA, P. I. Zinc deficiency and neurodevelopment: the case of neurons. **Biofactors**, v. 36, n. 2, p. 117-124, 2010.
- ANTUNES, L. S. *et al.* Amamentação natural como fonte de prevenção em saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 103-109, 2008.
- BARROS, K. M. F. T. *et al.* A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutritional neuroscience**, v. 9, n. 1-2, p. 99-104, 2006.
- BISCEGLI, T. S. *et al.* Avaliação do estado nutricional e do desenvolvimento neuropsicomotor em crianças frequentadoras de creche. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 25, p. 337-342, 2007.
- BOUCHER, O. *et al.* Neurophysiologic and neurobehavioral evidence of beneficial effects of prenatal omega-3 fatty acid intake on memory function at school age. **The American journal of clinical nutrition**, v. 93, n. 5, p. 1025-1037, 2011.
- BRASIL. MINISTERIO DA SAUDE. SECRETARIA DE POLITICAS DE SAUDE. **Saúde da criança: acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil**. Brasil. Ministerio da Saude, 2002.
- CANOY, D. *et al.* Coronary heart disease incidence in women by waist circumference within categories of body mass index. **European journal of preventive cardiology**, v. 20, n. 5, p. 759-762, 2013.

CHECKLEY, W. *et al.* Effect of water and sanitation on childhood health in a poor Peruvian peri-urban community. **The Lancet**, v. 363, n. 9403, p. 112-118, 2004.

COUTINHO, J. G.; GENTIL, P. C.; TORAL, N. A desnutrição e obesidade no Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, p. s332-s340, 2008.

CUSICK, S. E.; GEORGIEFF, M. K. The role of nutrition in brain development: the golden opportunity of the “first 1000 days”. **The Journal of pediatrics**, v. 175, p. 16-21, 2016.

DELGADO-NOGUERA, M. F. *et al.* Supplementation with long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) to breastfeeding mothers for improving child growth and development. **Cochrane database of systematic reviews**, n. 7, 2015.

DROR, D. K.; ALLEN, L. H. Effect of vitamin B12 deficiency on neurodevelopment in infants: current knowledge and possible mechanisms. **Nutrition reviews**, v. 66, n. 5, p. 250-255, 2008.

EUCLYDES, M. P. **Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação saudável**. UFV, 2005.

FRÔNIO, J. S. *et al.* Estado nutricional e desenvolvimento motor grosso de lactentes entre seis e dezoito meses de idade. **Journal of Human Growth and Development**, v. 21, n. 1, p. 30-38, 2011.

GARWOLIŃSKA, D. *et al.* Chemistry of human breast milk—A comprehensive review of the composition and role of milk metabolites in child development. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 45, p. 11881-11896, 2018.

GETCHELL, N.; HAYWOOD, K. M. Desenvolvimento motor ao longo da vida. **Porto Alegre: Artmed**, 2004.

GUEDES, R. C. A.; ROCHA-DE-MELO, A. P.; TEODÓSIO, N. R. Nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral. **Ciência e cultura**, v. 56, n. 1, p. 32-35, 2004.

HIBBELN, Joseph R. *et al.* Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. **The Lancet**, v. 369, n. 9561, p. 578-585, 2007.

HOFFMAN, D. R. *et al.* Toward optimizing vision and cognition in term infants by dietary docosahexaenoic and arachidonic acid supplementation: a review of randomized controlled trials. **Prostaglandins, Leukotrienes and essential fatty acids**, v. 81, n. 2-3, p. 151-158, 2009.

KE, X. *et al.* IUGR increases chromatin-remodeling factor Brg1 expression and binding to GR exon 1.7 promoter in newborn male rat hippocampus. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 309, n. 2, p. R119-R127, 2015.

LIMA, D. B. *et al.* Alimentação na primeira infância no Brasil. **Revista de APS**, v. 15, n. 3, 2012.

LOZOFF, B. *et al.* Long-lasting neural and behavioral effects of iron deficiency in infancy. **Nutrition reviews**, v. 64, n. suppl\_2, p. S34-S43, 2006.

MACHADO, Z. *et al.* Crescimento físico e estado nutricional de escolares: estudo comparativo-1997 e 2009. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 13, p. 216-222, 2011.

MAMABOLO, R. L. *et al.* Feeding practices and growth of infants from birth to 12 months in the central region of the Limpopo Province of South Africa. **Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 327-333, 2004.

MANSUR, S. S.; NETO, F. R. Desenvolvimento neuropsicomotor de lactentes desnutridos. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 10, p. 185-191, 2006.

MARQUES, F. S.; LOPES, F. A.; BRAGA, J. A. O crescimento de crianças alimentadas com leite materno exclusivo nos primeiros 6 meses de vida. **J Pediatr.**, v. 80, n. 2, p. 99-105, 2004.

MEDEIROS, A. P. M.; FERREIRA, J. T. L.; FELÍCIO, C. M. Correlação entre métodos de aleitamento, hábitos de sucção e comportamentos orofaciais. **Pró-Fono Revista de Atualização Científica**, v. 21, p. 315-319, 2009.

MONTEIRO, C. A.. Fome, desnutrição e pobreza: além da semântica. **Saúde e Sociedade**, v. 12, p. 7-11, 2003.

MONTEIRO, C. A.; LOUZADA, M. L. C. Ultraprocessamento de alimentos e doenças crônicas não transmissíveis: implicações para políticas públicas. In: **Observatório internacional de capacidades humanas, desenvolvimento e políticas públicas: estudos e análises 2**, p. 18, 2015.

MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 4, p. 471-483, 2002.

MOTTA, M. E. F. A. *et al.* O peso ao nascer influencia o estado nutricional ao final do primeiro ano de vida?. **Jornal de Pediatria**, v. 81, p. 377-382, 2005.

NAVARRO, D. *et al.* Gestational and early postnatal hypothyroidism alters VGluT1 and VGAT bouton distribution in the neocortex and hippocampus, and behavior in rats. **Frontiers in neuroanatomy**, v. 9, p. 9, 2015.

NYARADI, A. *et al.* The role of nutrition in children's neurocognitive development, from pregnancy through childhood. **Frontiers in human neuroscience**, v. 7, p. 97, 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Obesity and overweight fact sheet**, 2018. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

PACHECO, J. T.; DALEPRANE, J. B.; BOAVENTURA, G. T. O efeito da alimentação alternativa nos indicadores biológicos e químicos de ratos em crescimento alimentados com a dieta do município de Quissamã, RJ. **Rev Saúde Com**, v. 3, n. 2, p. 35-47, 2007.

PRADO, S. D. *et al.* Alimentação e nutrição como campo científico autônomo no Brasil: conceitos, domínios e projetos políticos. **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 927-938, 2011.

- PRADO, E. L. *et al.* Maternal multiple micronutrient supplements and child cognition: a randomized trial in Indonesia. **Pediatrics**, v. 130, n. 3, p. e536-e546, 2012.
- RAMOS, M.; STEIN, L. M. Desenvolvimento do comportamento alimentar infantil. **Jornal de pediatria**, v. 76, n. Supl 3, p. S229-S237, 2000.
- ROOPAKALA, M. S. *et al.* Anthropometric measurements as predictors of intraabdominal fat thickness. **Indian J Physiol Pharmacol**, v. 53, n. 3, p. 259-264, 2009.
- ROTHER, E. T. Revisão sistemática X revisão narrativa. **Acta Paul Enferm**, v. 20, p.5-6. 2007.
- SAYEGH, M. G.; LIMA, M. C. Os distúrbios nutricionais e seus efeitos sobre o desenvolvimento motor. **Revista Pleiade**, v. 2, n. 3, p. 115-125, 2008.
- TRAN, P. V. *et al.* Fetal iron deficiency induces chromatin remodeling at the **Bdnf** locus in adult rat hippocampus. **Am J Physiol Integr Comp Phys**, p. 276-282, 2015.
- VEENA, S. R. *et al.* Higher maternal plasma folate but not vitamin B-12 concentrations during pregnancy are associated with better cognitive function scores in 9-to 10-year-old children in South India. **The Journal of nutrition**, v. 140, n. 5, p. 1014-1022, 2010.
- WEFFORT, V. R. S. Importância da nutrição adequada na primeira infância. **Pediatr. mod**, 2013.

# CAPÍTULO 2

## MICROORGANISMOS SIMBIONTES RELACIONADOS A MICROBIOTA DE PACIENTES COM A DOENÇA DE ALZHEIMER

**Alexandre Moreira de Almeida**, Biomédico, Unigran Capital  
**Isabela Cristina de Oliveira Campos**, Biomédica, Unigran Capital  
**Renata Matuo**, Doutora em Biologia Celular e Molecular, UFRGS, Docente do Centro  
Universitário Unigran Capital

### RESUMO

A Doença Alzheimer (DA) é uma demência neurodegenerativa caracterizada por placas senis que se acumulam formando os novos fibrilares, causando uma perda sináptica e levando o indivíduo a sofrer com processos de perda de memória, distúrbios na fala e dificuldade de executar tarefas simples. Este trabalho teve como objetivo entender sobre a patologia da DA e identificar o modo como a microbiota intestinal está interligada a ela. Trata-se de uma revisão bibliográfica com artigos na língua portuguesa e inglesa selecionados em acervos literários como Scielo, Google Acadêmico, Nature e Society for Applied Microbiology entre os anos de 2008 a 2019. Os resultados encontrados na pesquisa mostram que a microbiota intestinal está relacionada ao desenvolvimento de diversos tipos de demência, entre elas destaca-se a DA, na qual os pacientes possuem um microbioma com baixa diversidade microbiana. Os microrganismos presentes em maior quantidade produzem metabólitos pró-inflamatórios que caem na corrente sanguínea ocasionando inflamações sistêmicas. Estudos em camundongos mostraram que a liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias na corrente sanguínea daqueles tratados com probióticos ocasionaram uma diminuição de citocinas pró-inflamatórias. Este tratamento obteve um resultado significativo, sendo um grande passo para a ciência na busca de tratamentos eficazes para o Alzheimer. Notoriamente, ainda é escasso o número de pesquisas nessa área, contudo, observamos que progressivamente se obteve um aumento no conteúdo acerca disso.

**PALAVRAS-CHAVE:** “Doença de Alzheimer”, “Microbioma”, “Doenças Neurodegenerativas”, “Eixo Intestino-Cérebro”.

### INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é o principal tipo de demência em grupos etários mais avançados, sendo responsável por 50 a 70 % do número total de casos. Em 2012, um milhão e duzentos mil brasileiros apresentavam a doença. Um estudo em 80 idosos com DA apresentou baixos níveis de escolaridade, a maioria não tinha nem ensino fundamental completo (MATOS; DECESARO, 2012).

A DA é a patologia neurodegenerativa mais prevalente entre os casos de demência, sendo associada a alterações relacionadas ao declínio cognitivo, ou seja, afeta a memória, o

saber, a percepção e a execução de atividades, dificultando assim de a prática de atividades cotidianas (KRAUSE, 2012 *apud* SOTO *et al.*, 2005).

Tem como característica a síntese de grupos anormais do peptídeo Beta-amilóide, que formam placas e nós fibrilares em torno das células nervosas (KRAUSE, 2012 *apud* National Institutes of Health - NIH, 2006). Este acúmulo leva a morte de células neurais, resultando em uma diminuição do córtex cerebral e entorrinal, do hipocampo e do estriado ventral, sendo estas áreas responsáveis pelas funções cognitivas, acometendo também a perda de função sináptica (SERENIKI; VITAL, 2008).

O córtex de uma pessoa com DA apresenta tamanho diminuído, o que afeta as regiões envolvidas com pensamentos e lembranças, o hipocampo é uma região do córtex que exerce papel importante na formação de novas lembranças e o encolhimento desta região resulta em problemas graves. Ocorre também o aumento do tamanho dos ventrículos nesses pacientes. Pacientes com DA apresentam um perfil com características patognomônicas como a presença de placas senis, causadas pelo agrupamento das proteínas  $\beta$ -amilóide, formando novelos fibrilares que levam a morte neuronal e conseqüentemente a perda sináptica (KRAUSE, 2012).

A DA pode ser classificada em três estágios: inicial, intermediário e final. A fase inicial ocorre quando o paciente apresenta perda de memória recente e dificuldade para aprender ou reter informações novas. Seu estágio inicial é de difícil reconhecimento pois a DA apresenta sintomas gerais como o esquecimento e a perda de concentração, que são também sinais naturais do envelhecimento. Conforme a doença avança suas manifestações continuam progressivas levando a um aumento da perda de memória, distúrbios na fala, perda de independência, comportamento alimentar desordenado e conseqüentemente alterações no peso (KRAUSE, 2012).

Durante a fase intermediária, a pessoa fica incapacitada de desenvolver essas novas informações. No último estágio o paciente entra em um quadro onde sua locomoção é incapacitada, além de não conseguir falar e realizar tarefas simples sozinho. Dentro de todos esses estágios o paciente pode apresentar alterações na personalidade e quadros de agressão, por isso faz-se necessário a presença de um cuidador (FERREIRA; MAINARDES, 2013 *apud* BASTOS *et al.*, 2000).

Em seu estágio terminal, o paciente perde o controle total da bexiga e do intestino, levando também a um quadro de fraqueza nos membros e ocorrência de contraturas (contração

incorreta do músculo), já em sua atividade intelectual ocorre uma estagnação deixando o paciente incapacitado, em um estado vegetativo (KRAUSE, 2012).

O corpo humano possui um complexo ecossistema formado por cerca de 90% de células de origem microbiana, sendo que a área mais colonizada é o trato gastrointestinal, onde se podem encontrar  $10^{13}$ - $10^{14}$  microrganismos (LANDEIRO, 2016, *apud* GILL *et al.*, 2006; LEY *et al.*, 2006). O nome dado aos microrganismos que habitam o intestino humano é microbiota, enquanto o conjunto de genes e genomas presentes na microbiota se dá o nome de microbioma (LANDEIRO, 2016, *apud* ELOE-FADROSH & RASKO, 2013).

Embora a composição da microbiota intestinal varie entre indivíduos, foi proposto que a microbiota intestinal de todos os humanos pode-se classificar como um de três enterótipos principais, sendo cada um destes caracterizado por níveis elevados de um único gênero: *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. ou *Ruminococcus* spp. (HU *et al.*, 2016 *apud* ARUMUGAM *et al.*, 2011).

O intestino do recém-nascido é considerado estéril ao nascer. No entanto, considera-se que o primeiro microbioma depende da maneira como ocorre o nascimento, caso o parto seja natural (vaginal), assemelha-se ao microbioma vaginal e intestinal da mãe, enquanto que na cesariana o microbioma é semelhante ao que se encontra na pele ou no ambiente hospitalar (LANDEIRO, 2016).

Grenham (2011) nos mostra que no período pré-natal, ainda há uma esterilidade acerca do microbioma intestinal e, conforme o passar do tempo microrganismos começam a colonizar a área intestinal, em humanos e animais, pela alimentação e ambiente em que vivem após o nascimento.

Ao serem introduzidos alimentos sólidos, esse microbioma é modificado e quanto mais cedo essa ingestão, mais rápido irá atingir uma estabilidade microbiana. Já na vida adulta, o microbioma intestinal adquire características individuais para cada um, mantendo-se relativamente estável com o tempo (LANDEIRO, 2016, *apud* RAJILIC-STOJANOVIC *et al.*, 2013). Com o envelhecimento, a diversidade e estabilidade do microbioma intestinal diminui de acordo com o estado de saúde do indivíduo (LANDEIRO, 2016, *apud* CLAESSION *et al.*, 2011).

A microbiota intestinal é extremamente importante na transmissão de sinais para o cérebro, uma vez que é essencial na comunicação entre o trato gastrointestinal e o sistema nervoso central (LANDEIRO, 2016, *apud* CRYAN & DINAN, 2012).

O conceito eixo intestino-cérebro ou cérebro-intestino, consiste num sistema de comunicação bidirecional, que envolve o sistema nervoso entérico, nervo vago, sistema nervoso simpático e parassimpático e o sistema endócrino e imune (BERCIK *et al.*, 2012).

Os seres humanos possuem em seu sistema gastrointestinal microrganismos de origem patogênicas que em quantidades normais ocasiona um quadro de comensalismo. Contudo, em casos de abundância são relacionados a doenças como ansiedade, diabetes, obesidade, estresse induzido e doenças neuropsiquiátricas como o autismo e o Alzheimer (HILL *et al.*, 2014 *apud* BRAVO *et al.*, 2012).

Estudos realizados com antibióticos em camundongos revelou que a microbiota do intestino dos mesmos passou por um estresse, onde os níveis de corticosterona (semelhante ao cortisol) sérico estavam aumentados, assim como a ansiedade e o comprometimento da memória espacial (HU *et al.*, 2016). A *Citrobacter rodentium* é uma bactéria gram negativa que causa a enterite (inflamação do intestino), ela não é capaz de mudar a memória e a cognição do camundongo, contudo, expõe o animal a estresses psicológicos e reduz seu reconhecimento de memória espacial e de trabalho (HU *et al.*, 2016).

De acordo com Landeiro (2016), a microbiota intestinal é essencial na homeostase estando a disbiose envolvida no desenvolvimento de doenças gastrointestinais e sistêmicas. Uma microbiota intestinal estável é fundamental para a manutenção da fisiologia normal e contribui para a correta transmissão de sinais ao longo do eixo intestino-cérebro. O stress também pode afetar a microbiota, influenciando as funções do intestino já que ele modifica sua composição (GRENHAM *et al.*, 2011). Borre *et al.*, (2014) demonstrou que o eixo intestino-cérebro e a microbiota intestinal têm um papel crucial durante as diferentes fases do neurodesenvolvimento, e que durante a colonização inicial e desenvolvimento da microbiota certos eventos podem determinar o estado de saúde mental.

Recentemente Hu *et al.*, (2016) constataram que a flora intestinal quando alterada infere problemas de cognição no funcionamento normal do cérebro. Arumugam *et al.*, (2013) relaciona a atividade de alguns microrganismos a dieta dos pacientes, como por exemplo bactérias do enterótipo *Parabacteroides*, a qual sua energia deriva da fermentação de carboidratos e proteínas. Já a *Prevotella* tem como característica a degradação de mucinas presentes na camada mucosa do intestino. Arumugam também apresenta o *Ruminococcus* que degrada mucinas, sendo sua membrana enriquecida por transportadores formados

principalmente por açúcares. Hu *et al.*, (2016) *apud* Wu *et al.*, (2011) enfatiza que o enterótipo não depende de sexo, origem genética ou idade, mas sim a padrões alimentares de longo prazo.

Hu *et al.*, (2016) reportou que o organismo é dependente de ácidos graxos polinsaturados como o ômega 3, sendo necessário para o funcionamento neuronal e cerebral. Níveis baixos destes ácidos no organismo são associados a doenças neurodegenerativas como a DA.

A barreira hematoencefálica se torna mais permeável com o passar dos anos, tornando o SNC mais suscetível a neurotoxinas formadas por microrganismos residentes e patogênicos. Desta forma, as infecções alteram a permeabilidade da barreira facilitando a colonização de patógenos oportunistas (HILL *et al.*, *apud* BRENNER, 2013; TRAN; GREENWOOD-VAN MEERVELD, 2013; WELLING *et al.*, 2014).

Os lipopolissacarídeos (LPS) ou endotoxinas são formados por açúcares mais lipídeos presentes nas paredes celulares de bactérias gram-negativas que desencadeiam resposta inflamatória quando entram na corrente sanguínea. Normalmente o organismo humano bloqueia esses LPS pelas junções de células epiteliais intestinais, contudo, quando comprometidas, caem na corrente sanguínea e causam inflamação. Pacientes com DA revelaram que os mesmos possuem cerca de 3 vezes mais LPS a níveis plasmáticos do que pacientes saudáveis (HU *et al.*, 2016 *apud* ZHANG *et al.*, 2009)

Estudos sugerem que a microbiota intestinal interfere na produção de neurotransmissores e no metabolismo, e por este motivo pode estar relacionada a DA. As bactérias que habitam o intestino como o *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, conseguem produzir um neurotransmissor chamado ácido gama-aminobutírico (GABA), através da metabolização do glutamato. Quando há uma desregulação desses transmissores, ocorrem alterações relacionadas a parte de cognição do paciente: um aumento de GABA no trato gastrointestinal resulta em um aumento do mesmo no SNC (LANDEIRO *et al.*, 2016). No caso da DA, verificou-se níveis inferiores de GABA no córtex (LANDEIRO *et al.*, 2016 *apud* LANCTÔT *et al.*, 2004).

Nos últimos anos a DA vem se tornando uma epidemia silenciosa, acometendo não somente idosos, mas também pessoas acima de 40 anos. Afeta não apenas a memória, também modifica totalmente a rotina do paciente, tornando-o incapacitado de realizar atividades. Este trabalho teve como objetivo compreender as funções relacionadas ao eixo intestino-cérebro, os

microrganismos que envolvem ambos e como as alterações estão envolvidas em pessoas com a DA.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a elaboração deste trabalho foram utilizados trabalhos publicados em plataformas como Google Acadêmico, Nature, Society for Applied Microbiology “SFAM” e Scielo, considerando livros e artigos científicos publicados entre o período de 2008 a 2019, nos idiomas português e inglês, sobre a doença de Alzheimer, microbiota humana e a relação entre elas, sendo selecionados para constituir este trabalho. Os critérios de inclusão e exclusão utilizados neste trabalho foram:

**Quadro 1** - Os critérios de inclusão e exclusão de artigos que falem a respeito da Doença de Alzheimer, com foco na microbiota de indivíduos que possuem a patologia.

### Critérios de inclusão

- Estudos sobre a Doença de Alzheimer
- Microbiota de pessoas saudáveis
- Microbiota de pacientes com DA
- Como os microrganismos estão relacionados com o sistema nervoso central
- Publicações em livros, artigos completos e monografias
- Trabalhos publicados entre os anos de 2008 a 2019

### Critérios de exclusão

- Tratamentos para a DA
- Outros tipos de doenças neurodegenerativas
- Artigos incompletos
- Trabalhos publicados antes de 2008.

**Fonte:** Autores

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A doença de Alzheimer é um tipo de demência que afeta o cérebro como um todo, diminuindo áreas como córtex, ventrículos e hipocampo, afetando diretamente a memória e a execução de atividades simples (SOTO *et al.*, 2005 *apud* SERENIKI; VITAL, 2008). E em correlação com a DA a microbiota intestinal é extremamente importante na transmissão de sinais para o cérebro, uma vez que é essencial na comunicação entre o trato gastrointestinal e o sistema nervoso central (LANDEIRO, 2016, *apud* CRYAN & DINAN, 2012).

Essas informações proporcionaram o estudo da relação intestino-cérebro e os trabalhos mais relevantes que foram encontrados são apresentados no Quadro 2.

**Quadro 2 - Principais artigos utilizados neste trabalho**

ARTIGO /AUTOR	OBJETIVOS	METODOLOGIA	PRINCIPAIS RESULTADOS	CONCLUSÃO
LANDEIRO, 2016. <b>Impacto da microbiota intestinal na saúde mental.</b>	<p>Analisar a microbiota intestinal e a maneira como ela é modificada em patologias como ansiedade, depressão e doença de Alzheimer.</p> <p>Investigar a modulação da microbiota intestinal.</p>	<p>Levantamento bibliográfico utilizando palavras chaves “microbiota intestinal”, “cérebro”, “eixo intestino-cérebro” e “saúde mental” no período de 1972 a 2016.</p>	<p>A autora cita aspectos como a definição da microbiota para microbioma, como é formada a microbiota de um recém nascido e a importância do eixo intestino-cérebro.</p>	<p>Em um futuro próximo as doenças mentais poderão ser tratadas através da manipulação da microbiota intestinal, substituindo assim os tratamentos atuais que nem sempre são vantajosos.</p>
MAHAN <i>et al.</i> , 2012. <b>Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia</b>	<p>Definir os estágios da fisiopatologia da doença de Alzheimer</p>	<p>Literatura que aborda a parte nutricional e sua relação com patologias como o Alzheimer. Trata-se de um Livro em sua 13ª edição, voltada para as áreas da saúde, mais ligada a área da nutrição. Foram utilizadas palavras chaves como</p> <p>Alzheimer e nutrição</p>	<p>Definição de Alzheimer assim como as características da doença e os estágios que ela apresenta.</p>	<p>A Doença de Alzheimer é definida como demência associada a alterações relacionadas ao declínio cognitivo. Formada por nós fibrilares e placas pelo acúmulo de <math>\beta</math>-amilóide e dividida em inicial, intermediária e final.</p>
HU <i>et al.</i> , 2016. <b>Alzheimer’s disease and gut microbiota</b>	<p>Estudar a microbiota intestinal de camundongos e a maneira como ela se comporta diante stress, antibióticos e alimentação</p>	<p>Revisão bibliográfica usando as palavras na língua inglesa: “Alzheimer’s disease”, “gut microbiota”, “leaky gut”, “leaky brain”, “diet”, “infection”, “hygiene hypothesis”. Considerando artigos publicados entre 1978 a 2016.</p>	<p>Estudos realizados em camundongos mostraram que o estresse está diretamente relacionado com a doença assim como a alimentação de cada indivíduo.</p>	<p>A bactéria <i>Citrobacter rodentium</i> ocasiona estresse no camundongo provocando perda de memória espacial e o estereótipo está ligado a alimentação a longo prazo e não ao sexo do indivíduo.</p>
VOGT <i>et al.</i> , 2017. <b>Gut microbiome alterations in Alzheimer’s disease</b>	<p>Identificar grupos presentes na microbiota de pessoas com e sem a doença de Alzheimer, assim como quantidade em cada caso e a maneira</p>	<p>Seleção de participantes que apresentam a DA, excluindo pacientes que utilizaram antibióticos nos últimos 6 meses, alcool ou que tenham qualquer</p>	<p>Todos os 50 participantes apresentaram filos dominantes semelhantes, sendo que as pessoas com DA tiveram uma</p>	<p>Pacientes com a DA possuem uma diminuição significativa de Firmicutes e um aumento de Bacteroidetes estando proporcionalmente</p>

	que isso afeta o indivíduo	outra doença neurológica significativa.	diminuição na diversidade de bactérias entre os filos.	ligados aos efeitos pró inflamatórios.
--	----------------------------	---	--	--

Fonte: Os autores

Segundo Vogt *et al.*, (2017) as bactérias intestinais possuem funções específicas para a manutenção da saúde humana, atuando em partes como de extração de energia, biossíntese de vitaminas, proteção contra patógenos e influenciando o sistema imunológico (*apud* CHOW *et al.*, 2010). Vogt *et al.*, (2017) realizou um estudo utilizando medidas ecológicas tradicionais em amostras fecais com o intuito de identificar as comunidades da microbiota intestinal de indivíduos normais (controle) e com a DA. Os estudos avaliaram a riqueza relacionada ao número de unidade taxonômica operacional (OTUs) presente em um indivíduo, a diversidade alfa observando a riqueza e abundância de OTUs e a diversidade beta analisando a semelhança ou diferença em cada indivíduo. Os resultados mostraram que entre todos os participantes os filos mais dominantes foram os de Firmicutes e Bacteroidetes, representando cerca de 78% do todo. Contudo, é possível notar uma diminuição na diversidade filogenética do controle e de pacientes apresentando a DA.

As OTUs representam os microrganismos mais abundantes, e se mostram menos abundantes referentes ao grupo de DA em comparação ao controle. Pacientes com a DA apresentaram uma diminuição de Firmicutes e Actinobacteria (bactérias gram-positivas) e um aumento em Bacteroidetes (bactérias gram-negativa), tendo assim uma microbiota intestinal com baixa diversidade microbiana e composição distinta em relação ao grupo controle (VOGT *et al.*, 2017).

Stehle *et al.*, 2012 apresenta que idosos possuem mais proteínas de ligação a lipopolissacarídeos (LPS) e índices de inflamação. Isso ocorre por conta da alta permeabilidade intestinal ocasionada pela idade (VOGT *et al.*, 2017 *apud* MAN *et al.*, 2015). Considerando que as Bacteroidetes são bactérias gram-negativas, sua membrana externa é formada por LPS, sendo capaz de liberar citocinas pró-inflamatórias que são absorvidas pelo intestino e liberadas na corrente sanguínea, ocasionando uma inflamação sistêmica, podendo ser este um dos motivos para o seu aumento em pacientes com DA (VOGT *et al.*, 2017 *apud* CANI *et al.*, 2007).

Em pacientes saudáveis que não apresentam a DA foram verificadas bactérias dominantes com uma grande diversidade entre os filos, gêneros e espécies, e metabólitos anti-

inflamatórios nessa microbiota, estes irão cair posteriormente na corrente sanguínea proporcionando uma boa homeostase no organismo.

Já em pacientes com a DA as bactérias dominantes são em menor número não tendo variedades entre os filos e os gêneros encontrados, comumente produzem metabólitos pró-inflamatórios que irão ser absorvidos pelas microvilosidades e entrar na corrente sanguínea.

Levando em consideração que a microbiota intestinal e seus metabólitos podem influenciar uma resposta inflamatória, Bonfili *et al.*, (2017) avaliou a liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias na corrente sanguínea de camundongos controle e com a DA, sendo o último dividido em um grupo tratado apenas com água e outro com probióticos. Uma diminuição de citocinas pró-inflamatórias foram observadas em camundongos que apresentavam DA, confirmando que a microbiota modificada tratada com probióticos teve um efeito anti-inflamatório significativo.

Algumas espécies do filo Firmicutes como os *Lactobacillus* e bactérias do filo Actinobactérias como os *Bifidobacterium* são capazes de metabolizar o glutamato a fim de produzir o Ácido-Gama-Amino-Butírico mais conhecido como GABA, sendo este o principal neurotransmissor inibidor do SNC. Disfunções em sua sinalização estão relacionadas a DA (BHATTACHARJEE *et al.*, 2013 *apud* AZIZ *et al.*, 2013) podendo estas serem ocasionadas pela diminuição dos filos, como citado por Vogt *et al.*, (2017).

De alguma forma o desenvolvimento da doença de Alzheimer (DA) está relacionado com a microbiota intestinal. Estudos vem demonstrando que pacientes com uma microbiota debilitada são mais propícios de serem acometidos pela doença, ressaltando que isso depende tipo de microbioma encontrado no intestino. Essa variação de quantidade e tipos de filos mostrou estar relacionado a diversos fatores, entre eles a alimentação dos pacientes. Da mesma forma que hábitos de vida saudáveis resultam em menores chances de sofrer com essa patologia, enquanto que pessoas com hábitos sedentários e má alimentação estão mais propensos a desenvolver DA.

## CONCLUSÃO

Apesar de haver uma escassez no desenvolvimento de pesquisas dessa interação microbiota-cérebro, trabalhos mostraram que determinados medicamentos utilizados em camundongos comprovaram a eficácia de tratamentos da DA. Aqueles que fizeram o uso de metabólitos através da medicação desenvolveram uma microbiota saudável com melhora do

quadro da doença, diferentemente daqueles que não fizeram ingestão medicamentosa e seus quadros não tiveram alteração.

Cada vez mais observamos trabalhos sendo publicados com temas referentes ao Alzheimer e sua relação com a microbiota. Essa comunicação entre o eixo microbiota-intestino-cérebro está sendo cada vez mais explorada, buscando entender as alterações que uma disbiose provoca no organismo humano e a sua influência em pessoas diagnosticadas com a doença de Alzheimer.

Grande parte das pesquisas são elaboradas com estudos em roedores, onde seus resultados são de extrema importância para o avanço da ciência, fazendo com que futuramente cientistas consigam desenvolver medidas terapêuticas para tratamento e prevenção da doença com métodos eficazes e de fácil acesso.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZHEIMER'S ASSOCIATION (EUA, Chicago). **Viagem ao cérebro**. Chicago, 2019. Disponível em: <[https://www.alz.org/brain\\_portuguese/09.as](https://www.alz.org/brain_portuguese/09.as)> Acesso em: 21/ set/2019.

ARUMUGAM, M. *et al.* Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**, [s.l.], v. 473, n. 7346, p.174-180, 20 abr. 2011. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature09944>> Acesso em: 24/ set/2019.

BERCIK, P., COLLINS, S. M., & VERDU, E. F. (2012). Microbes and the gut-brain axis. **Neurogastroenterology and Motility**, 24(5), 405–413. Disponível em: <<http://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01906.x>>. Acesso em: 24/ set/2019.

BHATTACHARJEE, S.; LUKIW, W.J. Alzheimer's disease and the microbiome. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 7, p. 153, 2013.

BONFILI, L., *et al.* "Microbiota modulation counteracts Alzheimer's disease progression influencing neuronal proteolysis and gut hormones plasma levels." **Scientific reports** 7.1 (2017): 1-21.

BOSTANCIKLIOĞLU, M. The role of gut microbiota in pathogenesis of Alzheimer's disease. **Journal of applied microbiology**, v. 127, n. 4, p. 954-967, 2019. Disponível em: <<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jam.14264>>. Acesso em: 24/ fev/ 2020.

CLAESSON, M. J., CUSACK, S., O'SULLIVAN, O., GREENE-DINIZ, R., de WEERD, H., FLANNERY, E., O'TOOLE, P. W. (2011). Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 108(Suppl. 1), 4586–4591. Disponível em: <<http://doi.org/10.1073/pnas.1000097107>>. Acesso em: 23/ set/ 2019.

FERREIRA, D. C.; CATELAN-MAINARDES, S. C. (2012). **Doença de alzheimer: como identificar, prevenir e tratar**. VI mostra interna de trabalhos de iniciação científica, Maringá-PR.

GRENHAM, S., CLARKE, G., CRYAN, J. F., & DINAN, T. G. (2011). Brain-gut-microbe communication in health and disease. **Frontiers in Physiology**, 2, 94. Disponível em: <<http://doi.org/10.3389/fphys.2011.00094>>. Acesso em: 23/ set/ 2019.

HILL, J.M.; CLEMENT, C.; POGUE, A. I.; BHATTACHARJEE, S.; ZHAO, Y.; LUKIW, W. J. (2014) Pathogenic microbes, the microbiome, and Alzheimer's disease (AD). **Front. Aging Neurosci.** 6:127. doi: 10.3389/fnagi.2014.00127

HU, X.; WANG, T.; JIN, F. (2016). Alzheimer's disease and gut microbiota. **Science China Life Sciences**, v. 59, n. 10, p. 1006-1023.

LANDEIRO, J. A. V. R. **Impacto da microbiota intestinal na saúde mental**. 2016. Dissertação Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 1987.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J. L. **Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 1256 p. Tradução de: Cláudia Coana *et al.*

MATOS, P. C. B. DE; DECESARO, M. N. DAS (2012). Características de idosos acometidos pela doença de Alzheimer e seus familiares cuidadores principais. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 14, n. 4, p. 857-65. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/fen/article/view/14775>>. Acesso em: 24/set/2019.

MONTIEL-CASTRO, A. J.; GONZÁLEZ-CERVANTES, R. M.; BRAVO-RUISECO, G.; PACHECO- LÓPEZ, G. (2013). The microbiota-gut-brain axis: neurobehavioral correlates, health and sociality. **Frontiers in Integrative Neuroscience**, 7, 1–16. Disponível em: <<http://doi.org/10.3389/fnint.2013.00070>>. Acesso em: 21/ set/ 2019.

SERENIKI, A.; VITAL, M. A. B. F. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Rev.Psiquiatr, Rio Grande do Sul**, vol.30, n.1, p. 1-17, 2008.

SILVEIRA, Denise Tolfo; CÓRDOVA, Fernanda Peixoto. A pesquisa científica. In: SUL, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Métodos de pesquisa**. Porto Alegre: Ufrgs, 2009. Cap. 2. p. 31-37. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/cursopgdr/downloadsSerie/derad005.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2019.

STEHLE JR, J.R., *et al.* Lipopolysaccharide-binding protein, a surrogate marker of microbial translocation, is associated with physical function in healthy older adults. **Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences**, v. 67, n. 11, p. 1212-1218, 2012.

VOGT, N. M., *et al.* Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-017-13601-y.pdf?origin=ppub>>. Acesso em: 23 fev. 2020.

# CAPÍTULO 3

## ANÁLISE DA SAZONALIDADE DA PROFILAXIA DO TÉTANO NO HOSPITAL DE PRONTO SOCORRO DE JUIZ DE FORA (HPS) - MINAS GERAIS

**Marcelo Barros Weiss**, Mestre em terapia intensiva, Doutor em saúde pública, Professor da faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

**Sergio Ibañez Nunes**, Mestre em Cirurgia, Doutor em Medicina Professor da Faculdade de Medicina, UniFOA.

**Thais Barros Corrêa Ibañez**, Mestre em Ensino em Ciências da Saúde, Instrutora de ACLS do Instituto Lóbus

**Marcos Guimarães de Souza Cunha**, Mestre e Doutor Professor da Faculdade de Medicina do UniFOA.

**Mariana Silva Cunha**, Faculdade de Medicina do UniFOA.

**Jorge Wilson Souza Paiva**, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

**Mauro de Sousa Junqueira**, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

**Douglas Barros Corrêa**, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

### RESUMO

**Introdução:** O tétano é uma doença infecciosa grave, de notificação compulsória, causada pelo *Clostridium tetani* que pode ter diversas apresentações de alta morbi-mortalidade. Através deste artigo, se intenta analisar a sazonalidade do atendimento para profilaxia do tétano em uma unidade de pronto atendimento. **Objetivo:** analisar as principais formas de imunização utilizadas no Brasil e os últimos 7 anos do atendimento profilático de tétano no Hospital Pronto Socorro de Juiz de Fora (HPS - JF) demonstrando as principais sazonalidades no Serviço de Soroterapia. **Métodos:** Estudo retrospectivo dos dados de atendimento de um Serviço de Soroterapia do ano de 2011 a 2017 e análise bibliográfica do Medline, Scielo, Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde. **Resultados:** No período estudado, dos 68386 atendimentos, foram realizadas 1089 aplicações de soro antitetânico, representando 1,6% do total de casos e 67297 aplicações da vacina antitetânica, representando 98,4% do total de casos. Nos meses de novembro a março e setembro, demonstrou-se que existe um aumento no número de atendimentos na soroterapia do HPS. **Conclusão:** Conclui-se que existe a necessidade de um protocolo de atendimento de feridas visando otimizar a utilização de vacinas e soro antitetânico, propiciando economia ao sistema público.

**PALAVRAS-CHAVE:** TÉTANO; PROFILAXIA; SAZONALIDADE.

### INTRODUÇÃO E LITERATURA

O tétano é uma doença infecciosa imunoprevenível, descrita pela primeira vez no Egito há mais de 3000 anos, sendo uma enfermidade prevalente no mundo antigo. É causada pelo bacilo *Clostridium tetani*, de notificação compulsória, encontrado livremente no solo e em fezes, pele, galhos, águas putrefatas, poeira das ruas e trato intestinal de animais na forma de

esporos. Esse bacilo gram-positivo esporulado anaeróbico é produtor de exotoxinas como tetanospasmína (conhecida como toxina tetânica), uma das mais potentes toxinas da natureza (240 gramas podem matar toda a população mundial), responsável pela paralisia espástica, e tetanolisina (HSU; GROLEAU, 2001); (TURTON; CHADDOCK; ACHARYA, 2002); (RHEE et al., 2005); (MUKHERJEE, 2003); (DUNING; SCHÄBITZ, 2007); (FARRAR, 2000); (LISBOA et al., 2011); (MIELI; ALDRIGHI, 2006); (VH, [s.d.]); (“guia\_vigilancia\_epidemiologica\_7ed.pdf”, [s.d.]);

Essa afecção pode ser classificada em acidental, local, cefálico, tétano generalizado e neonatal, sendo o neonatal de pior prognóstico e maior mortalidade. Sua letalidade depende da faixa etária, tipo de ferimento, da porta de entrada, duração do período de incubação e de progressão, gravidade da forma clínica, presença de complicações respiratórias, renais, hemodinâmicas e infecciosas, dentre outros, podendo levar ao óbito (RHEE et al., 2005); (MUKHERJEE, 2003); (EDLICH et al., 2003); (LISBOA et al., 2011); (MIELI; ALDRIGHI, 2006); (VH, [s.d.]); (“guia\_vigilancia\_epidemiologica\_7ed.pdf”, [s.d.]).

É verdade que os estudos sobre este tema em alguns aspectos são escassos, porém, estudos epidemiológicos sempre são importantes e relevantes quando consideramos uma micro ou macro região. Neste intento é que este estudo propõe analisar as principais formas de imunização utilizadas no Brasil e os últimos 7 anos do atendimento profilático de tétano no Hospital Pronto Socorro de Juiz de Fora (HPS - JF) demonstrando as principais sazonalidades no Serviço de Soroterapia.

## **MÉTODOS**

Trata-se de um estudo descritivo-retrospectivo, tomando como área de investigação a cidade de Juiz de Fora e sua macro-região, localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, com uma população estimada em 2010, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), de aproximadamente 1.600.000 de habitantes. O estudo foi constituído a partir dos dados de atendimento do Serviço de Soroterapia do Hospital Pronto Socorro - Mozart Teixeira, registrados dos anos de 2011 a 2017. Associado à estes, foram acrescentadas informações extraídas de artigos indexados à base de dados Medline e biblioteca virtual Scielo, além de textos e tabelas obtidas à partir do Ministério da Saúde e da Organização Mundial da Saúde.

A compilação e cálculo dos dados realizou-se por meio dos softwares Microsoft Word® e Microsoft Excel®, e a análise deu-se mediante frequência absoluta e relativa, cujos dados foram analisados de acordo com a literatura.

As variáveis de interesse foram as seguintes: sazonalidade dos atendimentos por profilaxia de tétano, uso de soro antitetânico e vacina dupla (tétano e *difterium*).

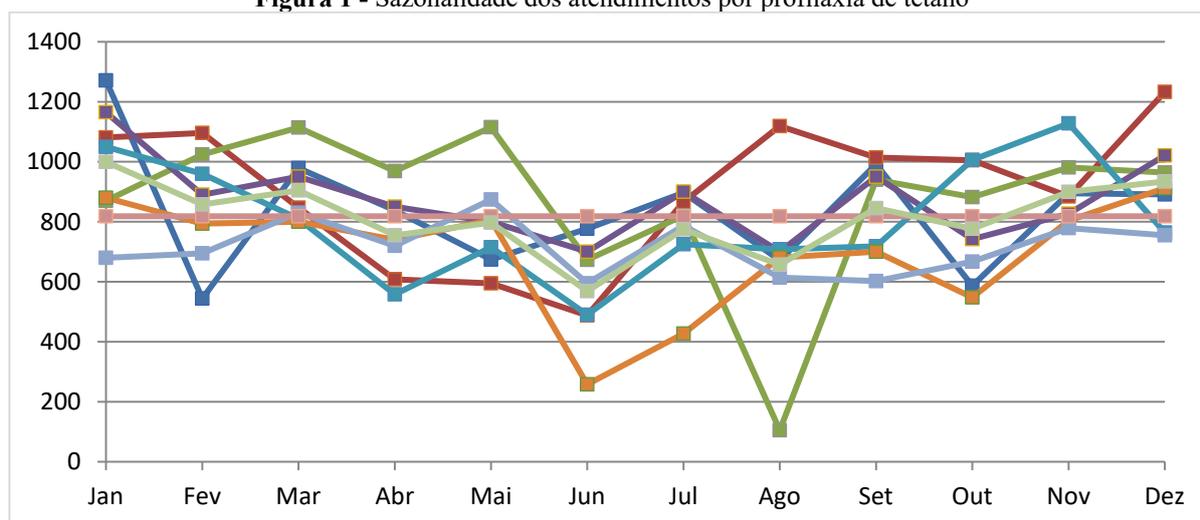
A análise dos dados foi realizada através de: a) cálculo de frequência simples das variáveis de interesse (média geral), obtida através do número total de casos de cada ano, somados e divididos pelo número de meses do ano; b) cálculo de frequência mensal das variáveis de interesse (média mensal), obtida através do número total de casos de cada mês em cada ano, somados e divididos pelo número de anos analisados; c) análise gráfica, obtida através dos respectivos valores de cada ano.

## RESULTADOS

De um total de 121.141 atendimentos do ano de 2012 na soroterapia de Juiz de Fora, 9377 foram imunizações, e destes, 8.503 foram com vacina antitetânica, com uma média de 708,58 atendimentos por mês.

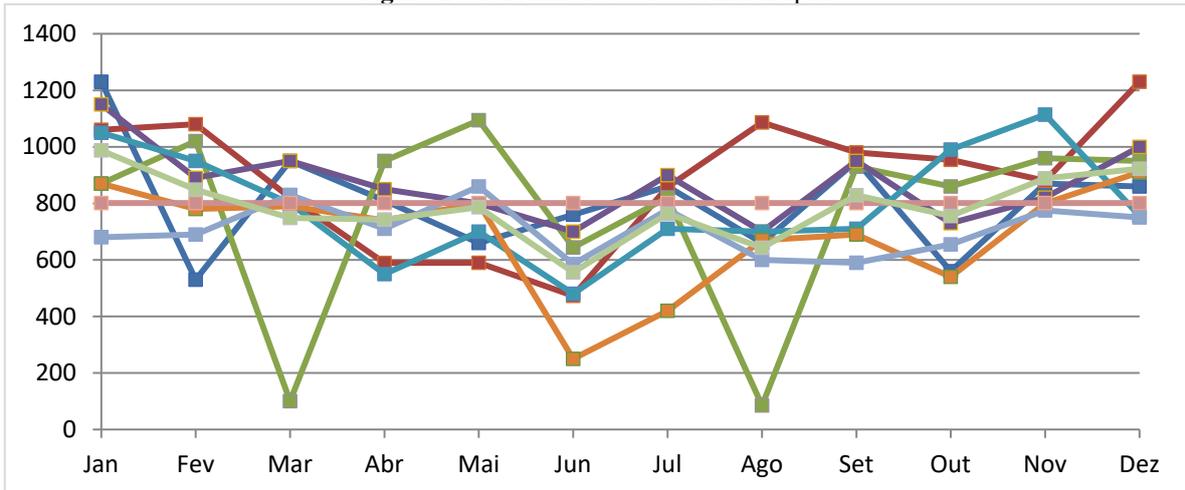
De 2011 a 2017, dos 68386 atendimentos por profilaxia de tétano, foram realizadas 1089 aplicações de soro antitetânico, representando 1,6% do total de casos e 67297 aplicações da vacina antitetânica, representando 98,4% do total de casos.

**Figura 1 - Sazonalidade dos atendimentos por profilaxia de tétano**



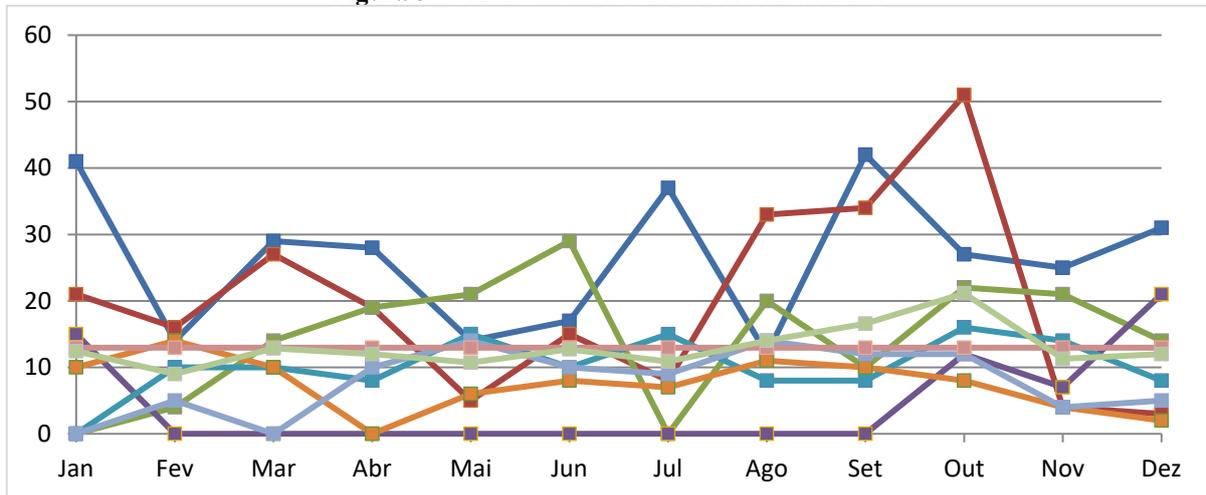
Fonte: Serviço de Soroterapia do Hospital Pronto Socorro - Mozart Teixeira

**Figura 2 - Sazonalidade das Vacinas Duplas**



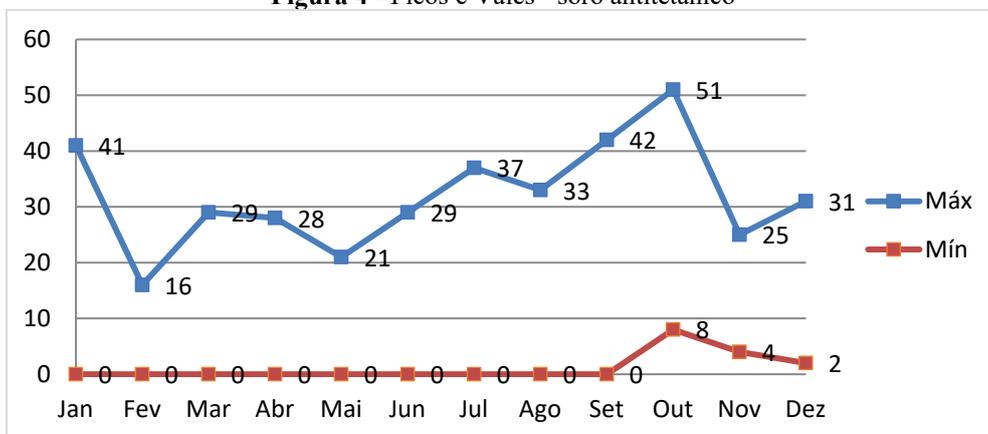
Fonte: Serviço de Soroterapia do Hospital Pronto Socorro - Mozart Teixeira

**Figura 3 - Sazonalidade do uso de soro antitetânico**



Fonte: Serviço de Soroterapia do Hospital Pronto Socorro - Mozart Teixeira

**Figura 4 - Picos e Vales - soro antitetânico**



Fonte: Serviço de Soroterapia do Hospital Pronto Socorro - Mozart Teixeira

**Tabela 1 - Médias Mensais**

M. Mensais	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Atendimentos	999,5	857,5	904,2	754,7	797	568,7	774,7	657	845,1	776,7	899,7	934,2
Vacina Dupla	987,1	848,5	748,5	742,7	786,2	556	763,8	643	828,5	755,5	888,4	922,2
Soro antitetânico	12,4	9	12,8	12	10,7	12,7	10,8	14	16,5	21,1	11,2	12

**Fonte:** Serviço de Soroterapia do Hospital Pronto Socorro - Mozart Teixeira

## DISCUSSÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), no mundo, somente em 2008 foram estimadas cerca de 61.000 mortes em menores de 5 anos. Desde 1980 até 2011 foram notificados cerca de 1.476.016 casos de tétano no mundo, sendo que destes, 942.060 casos entre 1980 e 1989, 326.697 casos entre 1990 e 1999, 181.985 casos entre 2000 e 2009. Somente em 2009 foram 11.963 casos, em 2010, 11.002 casos, e, em 2011, 14.272 casos notificados. No Brasil, desde 1980 até 2011 foram notificados cerca de 39.020 casos, sendo que destes, 25.122 casos entre 1980 e 1989, 9.821 casos entre 1990 e 1999, 3.462 casos entre 2000 e 2009, sendo que, somente em 2009 foram 278 casos, já em 2010, 308 casos, e, em 2011, 307 casos notificados. É importante ressaltar que desde 1997, quando o Brasil teve o seu mais baixo índice (74 casos), o país vem mantendo uma média de 395 casos/ano. (“Immunization surveillance, assessment and monitoring”, 2013); (“World Health Organization”, [s.d.]).

Nota-se, assim, um decréscimo percebido ao longo dos 31 anos citados, do número absoluto de casos de tétano notificados no país, porém, isso não é verdade considerando os últimos 14 anos. O Brasil, no ano de 2011, ficou entre os 130 países com uma taxa de imunização infantil maior-igual a 90% dos neonatos segundo a Unicef o que explica a baixa incidência da doença no país. (“Annotations. Tetanus. The Lancet”, [s.d.]) (“Immunization surveillance, assessment and monitoring”, 2013).

Considerando as vacinações em Juiz de Fora, de uma maneira geral, encontraram picos quando comparados à média geral, obtida através da média aritmética entre as médias anuais (818,4 casos/mês), de todos os atendimentos para profilaxia de tétano. Assim, nos meses de novembro a março e setembro, demonstrou-se que existe um aumento no número de atendimentos na soroterapia do HPS de Juiz de Fora em relação aos atendimentos da profilaxia do tétano. Também é perceptível que nos meses de abril, maio, setembro e outubro as vacinações se mantiveram próximos da média geral, enquanto que os meses de junho a agosto, estes demonstraram uma queda no número de vacinações. É importante ressaltar que nos meses de agosto de 2008 e junho de 2011 foi quando ocorreram os menores valores desse período

(105 e 258, respectivamente), e, em janeiro de 2011 e dezembro de 2012 os maiores valores, com 1271 e 1233 vacinações respectivamente.

Ao analisar separadamente as vacinações por dT e comparando com sua média geral (801,1 casos/mês), vemos que os meses de janeiro, março, novembro e dezembro apresentam um aumento no número de vacinações por dT, enquanto que nos meses de junho e agosto ocorre uma queda nas vacinações e, nos meses de fevereiro, abril, maio, julho, setembro e outubro se mantém perto da média geral. É importante ressaltar que nos meses de março e agosto de 2012 foi quando ocorreram os menores valores desse íterim (100 e 85, respectivamente), e, em janeiro de 2011 e dezembro de 2012 os maiores valores, ambos com 1230 vacinações.

Já, quando consideramos separadamente o soro antitetânico, comparando com sua média geral (12,9 casos/mês), inferimos que os meses de janeiro, março a junho e agosto a dezembro apresentaram um aumento na sua utilização, enquanto que fevereiro e julho se mantiveram de certa forma em uma constante mesmo com algumas variáveis. O valor mais alto nesse quesito foi o de outubro de 2012 (51 aplicações), enquanto que o mais baixo foi em janeiro e julho de 2013, fevereiro a setembro de 2014, janeiro de 2011, abril de 2011 e janeiro e março de 2012 (0 aplicações). A análise dos números obtidos deverá ser feita individualmente, uma vez que os números extremos podem representar sub-notificações e ou excesso de zelo por parte de um ou mais plantonistas que prescreveram de forma omissa ou exagerada a medicação referida como demonstrado no caso do uso do soro antitetânico

Com relação aos picos e vales, a maior amplitude se deu no mês de agosto, demonstrando grande variabilidade de ocorrências nesse mês quando se considera todos os casos, sendo isso verdade para as vacinações com dT, mas não para soro antitetânico, em que se mostrou maior amplitude no mês de outubro. Já os meses mais constantes foram os meses de março até maio e outubro até dezembro em relação a totalidade dos casos, enquanto que em relação apenas aos dT foram os meses de abril e setembro a dezembro, e, o soro antitetânico, os de fevereiro, maio e novembro.

## CONCLUSÃO

A partir desta avaliação podemos constatar que há necessidade de melhor programação quanto a estoques das vacinas necessárias à profilaxia do Tétano neste nosocômio. Os gráficos demonstram claramente que, em determinados períodos, poderemos otimizar estoques das geladeiras do Serviço, diminuindo assim, o risco de perda de material e possibilitando economia para a Prefeitura.

Ao analisar os pormenores da sazonalidade desses períodos, se constata que a cidade de Juiz de Fora e região tem a maioria de suas vacinações dadas no período de novembro a março.

As indicações do uso de soro antitetânico foram, no mínimo, conflitantes, uma vez que, por vários períodos, houve grandes variações da indicação de seu uso. Dessa maneira, pode-se inferir que os profissionais não estão sabendo indicar corretamente a medicação, uma vez que houve períodos de grande número de doses indicadas contra outros de ausência de indicação. Tal fato ocorreu devido a falta de um protocolo para atendimento de feridas o que confunde e prejudica o atendimento ao usuário dos sistemas de saúde.

Dessa forma a preparação, não só de materiais, mas também de pessoal qualificado e em número adequado para atender a demanda nesses intervalos se mostra mais que necessária, ainda mais por se tratar de um hospital que atende toda uma macro-região, seja direta ou indiretamente.

## REFERÊNCIAS

Annotations. Tetanus. *The Lancet*. n. 288:, p. 482– 3., [s.d.].

DUNING, T.; SCHÄBITZ, W.-R. Behandlungsstrategien des Tetanus. **Der Nervenarzt**, v. 78, n. 2, p. 145–155, fev. 2007.

EDLICH, R. F. et al. Management and prevention of tetanus. **Journal of Long-Term Effects of Medical Implants**, v. 13, n. 3, p. 139–154, 2003.

FARRAR, J. J. NEUROLOGICAL ASPECTS OF TROPICAL DISEASE: Tetanus. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 69, n. 3, p. 292–301, 1 set. 2000.

[guia\\_vigilancia\\_epidemiologica\\_7ed.pdf](#) ., [s.d.].

HSU, S. S.; GROLEAU, G. Tetanus in the emergency department: A current review. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 20, n. 4, p. 357–365, maio 2001.

**Immunization surveillance, assessment and monitoring**. . [s.l.] World Health Organization, 2013. Disponível em: <[http://www.who.int/immunization\\_monitoring/diseases/tetanus/en/index.html](http://www.who.int/immunization_monitoring/diseases/tetanus/en/index.html)>. Acesso em: 12 fev. 2013.

LISBOA, T. C. et al. Diretrizes para o manejo do tétano acidental em pacientes adultos. 2011.

MIELI, M. P. A.; ALDRIGHI, J. M. Tétano no climatério. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 4, p. 229–231, ago. 2006.

MUKHERJEE, P. Tetanus prophylaxis in superficial corneal abrasions. **Emergency Medicine Journal**, v. 20, n. 1, p. 62- a-64, 1 jan. 2003.

RHEE, P. et al. Tetanus and Trauma: A Review and Recommendations: **The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care**, v. 58, n. 5, p. 1082–1088, maio 2005.

TURTON, K.; CHADDOCK, J. A.; ACHARYA, K. R. Botulinum and tetanus neurotoxins: structure, function and therapeutic utility. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 27, n. 11, p. 552–558, nov. 2002.

VH, M. Autoria: Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. p. 16, [s.d.].

**World Health Organization**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[http://www.who.int/entity/immunization\\_monitoring/](http://www.who.int/entity/immunization_monitoring/)>.

# CAPÍTULO 4

## ANÁLISE DA SAZONALIDADE DA PROFILAXIA DA RAIVA NO HOSPITAL PRONTO SOCORRO DE JUIZ DE FORA (HPS) - MINAS GERAIS

**Marcelo Barros Weiss**, Mestre em terapia intensiva, Doutor em saúde pública, Professor da faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

**Sergio Ibañez Nunes**, Mestre em Cirurgia, Doutor em Medicina Professor da Faculdade de Medicina, UniFOA

**Thais Barros Corrêa Ibañez**, Mestre em Ensino em Ciências da Saúde, Instrutora de ACLS do Instituto Lóbus

**Marcos Guimarães de Souza Cunha**, Mestre e Doutor Professor da Faculdade de Medicina, UniFOA.

**Mariana Silva Cunha**, Faculdade de Medicina, UniFOA.

**Jorge Wilson Souza Paiva**, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

**Mauro de Sousa Junqueira**, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

**Douglas Barros Corrêa**, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

### RESUMO

**Introdução:** A raiva é uma encefalite viral progressiva e aguda, causada por um vírus do gênero Lyssavirus, de notificação compulsória, podendo ser transmitida por qualquer mamífero infectado, com letalidade de aproximadamente 100%, apesar de ser praticamente 100% prevenível. É considerada um problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento. **Objetivo:** Revisar aspectos desta doença e os 7 últimos anos do atendimento profilático anti-rábico no Hospital Pronto Socorro de Juiz de Fora (HPS - JF) demonstrando as principais sazonalidades no Serviço de Soroterapia. **Métodos:** Estudo retrospectivo dos dados de atendimento de um Serviço de Soroterapia do ano de 2011 a 2017 e análise bibliográfica do Medline, Scielo, Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde. **Resultados:** No período estudado, dos 12451 atendimentos anti-rálicos, foram realizadas 19517 doses aplicadas de vacina anti-rábica e 737 administrações de soro anti-rábico. Nos anos pesquisados até 2016 nota-se manutenção do número de atendimentos próximo a média mensal, não sendo o mesmo encontrado em 2017, quando houve um aumento. Demonstra-se também que existiu um aumento significativo da indicação do soro anti-rábico nos anos de 2016 e 2017. **Conclusão:** Conclui-se que o aumento da utilização do soro anti rábico demonstra de forma inequívoca o aumento do número de acidentes graves, se comparado aos anos anteriores, sem repercussão no número absoluto. Tal constatação pode revelar um aumento no número de casos de acidentes com animais não observáveis, necessitando a utilização de soro.

**PALAVRAS-CHAVE:** RAIVA; PROFILAXIA; SAZONALIDADE;

### INTRODUÇÃO E LITERATURA

A raiva é uma encefalite viral progressiva e aguda, causada por um vírus do gênero Lyssavirus dentro da família Rhabdoviridae, de notificação compulsória, podendo ser

transmitida por qualquer mamífero infectado, com letalidade de aproximadamente 100%, apesar de ser praticamente 100% prevenível. É considerada um problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento. (BARBOSA et al., 2008) (BRIGGS, 2012) (“Protocolo para tratamento de raiva humana no Brasil”, 2009) (GAUTRET; PAROLA, 2012) (GERMANO et al., 1988)

De todas as zoonoses é a mais temida, sendo o cão ainda o principal transmissor para o homem, se bem que intervenções humanas em ambientes selvagens através de desmatamentos e garimpagens, pode afetar a transmissão do vírus, aumentando a frequência de contato entre as pessoas e os animais selvagens. A vacinação em massa de cães e gatos com o objetivo de deter o ciclo de transmissão do vírus é a principal medida de controle da doença, vista pelo Programa de Profilaxia da Raiva, criado em 1973, pelo Ministério da Saúde, apesar do abate em massa de populações caninas ter sido um método muito praticado no passado, não se mostrou efetivo para evitar a propagação da doença e geralmente só serve como conduta alienante para as populações locais, segundo Briggs, 2012. (BARBOSA et al., 2008) (BRIGGS, 2012) (MIRANDA; SILVA; MOREIRA, 2003)

Por ser uma doença tão temida, a raiva deve ser objeto de estudo constante em todas as regiões do país, sendo importante conhecer as características de sua micro e macrorregião. Neste intento é que este estudo propõe revisar aspectos da doença e os 7 últimos anos do atendimento profilático anti-rábico no Hospital Pronto Socorro de Juiz de Fora (HPS - JF) demonstrando as principais sazonalidades no Serviço de Soroterapia.

## **MÉTODO**

Trata-se de um estudo descritivo-retrospectivo, tomando como área de investigação a cidade de Juiz de Fora e sua macro-região, localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, com uma população estimada em 2010, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), de aproximadamente 2.000.000 de habitantes. O estudo foi constituído a partir dos dados de atendimento do Serviço de Soroterapia do Hospital Pronto Socorro - Mozart Teixeira, registrados dos anos de 2011 a 2017. Associado a estes, foram acrescentadas informações extraídas de artigos indexados à base de dados Medline e biblioteca virtual Scielo, além de textos e tabelas obtidas à partir do Ministério da Saúde e da Organização Mundial da Saúde.

A compilação e cálculo dos dados realizou-se por meio dos softwares Microsoft Word® e Microsoft Excel®, e a análise deu-se mediante frequência absoluta e relativa, cujos dados foram analisados de acordo com a literatura.

As variáveis de interesse foram as seguintes: sazonalidade dos atendimentos por profilaxia de raiva à partir de acidentes ocorridos com indivíduos da população geral da região citada, uso de soro antirábico (imunoglobulina) e vacina antirábica.

A análise dos dados foi realizada através de: a) cálculo de frequência simples das variáveis de interesse (média geral), obtida através do número total de casos de cada ano, somados e divididos pelo número de meses do ano; b) cálculo de frequência mensal das variáveis de interesse (média mensal), obtida através do número total de casos de cada mês em cada ano, somados e divididos pelo número de anos analisados; c) análise gráfica, obtida através dos respectivos valores de cada ano.

## **CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

Não há conflito de interesses. A pesquisa não recebeu financiamento para sua realização.

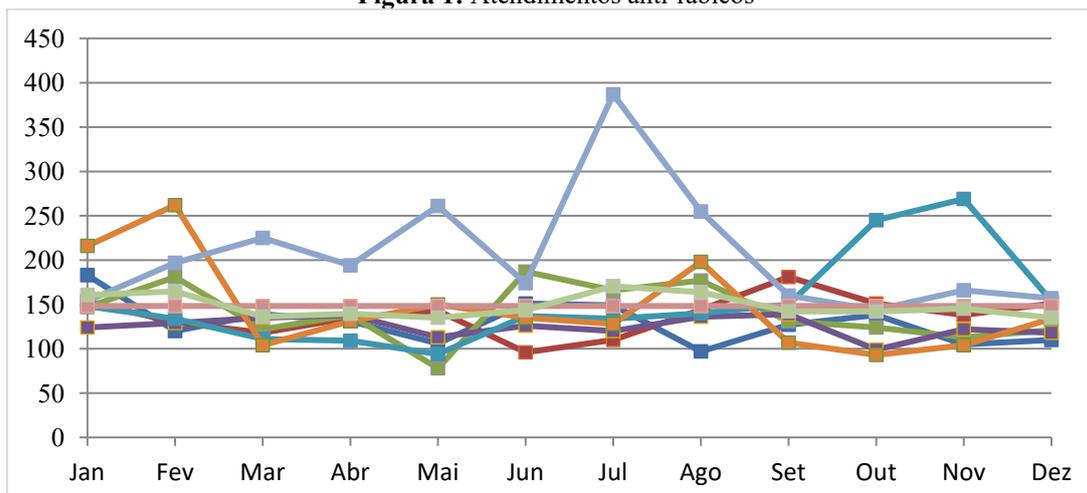
Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas de Juiz de Fora (FCMS-JF) – Parecer nº 20920313.4.0000.5103.

## **RESULTADOS**

De um total de 121.141 atendimentos na soroterapia de Juiz de Fora em 2017, 2.474 foram por atendimentos anti-rábitos, com uma média de 206,2 atendimentos por mês, 3.087 vacinas aplicadas e 178 soros administrados.

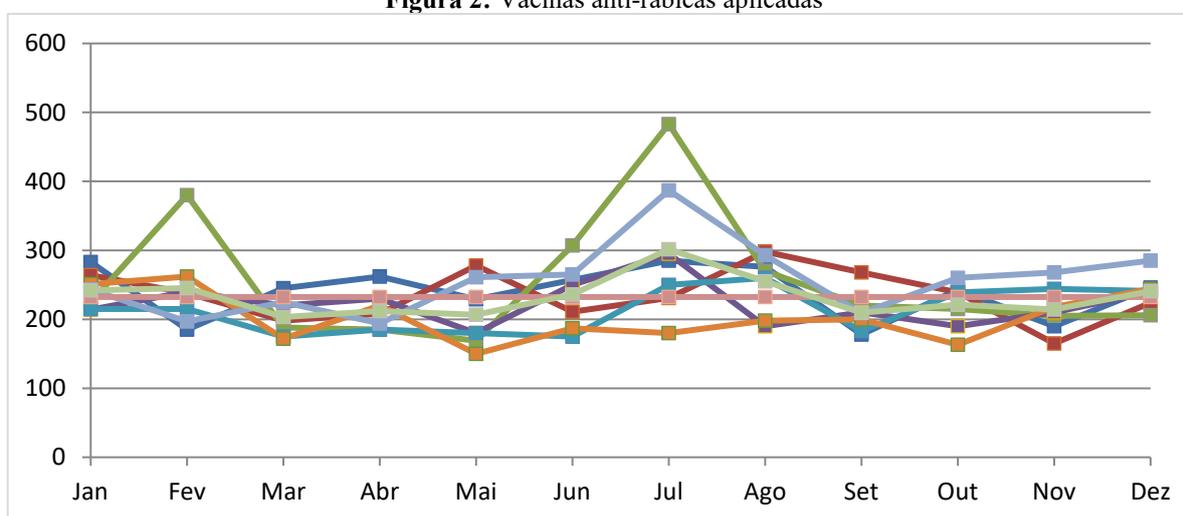
De 2011 a 2017, dos 12.451 atendimentos profiláticos anti-rábitos realizados, foram aplicadas 19.517 doses de vacinas anti-rábitos, 737 administrações de soro (casos graves) e 2.944 casos de busca ativa.

**Figura 1: Atendimentos anti-rábicos**



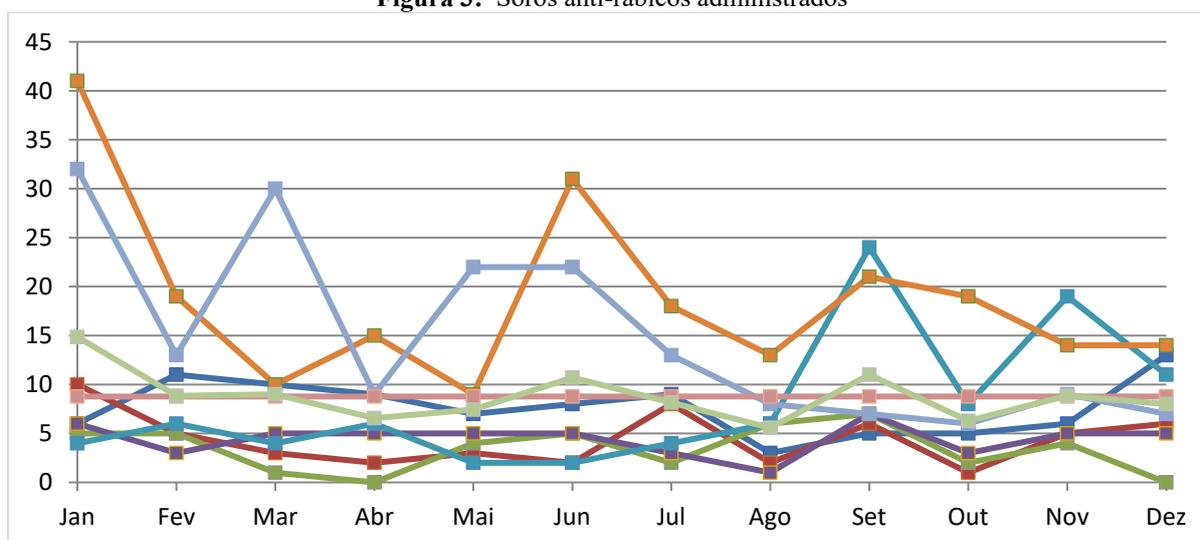
Fonte: HPS - Juiz de Fora – MG

**Figura 2: Vacinas anti-rábicas aplicadas**



Fonte: HPS - Juiz de Fora – MG

**Figura 3: Soros anti-rábicos administrados**



Fonte: HPS - Juiz de Fora – MG

**Tabela 1:** Médias Mensais.

M. Mensal	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Atend. AR	160,7	164,7	136,2	139,4	135,0	143,7	170,5	163,8	142,1	142,0	145,2	135,0
VAR Aplic.	242,1	245,2	203,2	212,0	206,7	236,0	301,5	255,0	209,7	221,2	214,2	240,8
SAR Admin.	14,8	8,8	9,0	6,5	7,4	10,7	8,1	5,5	11,0	6,2	8,8	8,0

**Fonte:** HPS - Juiz de Fora - MG

## DISCUSSÃO

No Brasil a idealização da prevenção é feita principalmente através da determinação das áreas de risco para raiva; monitoração da raiva animal com intuito de evitar ocorrência de casos humanos; investigação de todos os casos suspeitos de raiva humana e animal, bem como determinação de sua fonte de infecção; realização e avaliação de bloqueios de foco frente à suspeita de raiva; realização e avaliação de campanhas de vacinação antirrábica animal; normatização de condutas de atendimento antirrábico humano e garantia de assistência e realização do esquema profilático da raiva, em tempo oportuno; manutenção adequada do suprimento da rede do SUS com imunobiológicos (vacina antirrábica humana e canina, soro heterólogo e imunoglobulina) e medicamentos específicos para profilaxia e tratamento da raiva, além de propostas e avaliações de medidas de prevenção e controle. (GAUTRET; PAROLA, 2012) (HICKS; FOOKS; JOHNSON, 2012)

O tratamento é baseado no Protocolo de Milwaukee, criado devido ao sucesso terapêutico da primeira paciente não vacinada do mundo a ser curada de raiva, considerada até então letal pela literatura científica mundial, fato este ocorrido nos Estados Unidos em 2004. Este protocolo deve ser iniciado o mais precoce possível, e, consiste basicamente na indução de coma, reposição de enzimas, uso de antivirais, além da manutenção dos sinais vitais do paciente. Em 2008, ocorreu a primeira cura de raiva humana no Brasil, abrindo assim novas perspectivas para o tratamento desta doença, originando assim, o Protocolo Brasileiro para Tratamento da Raiva Humana, o Protocolo de Recife.(GAUTRET; PAROLA, 2012) (HICKS; FOOKS; JOHNSON, 2012) (JACKSON, 2011) (2011)

No ano de 1990 até 2012 foram 582 casos no país, sendo que destes, 411 foram no período de 1990 até 1999, 163 no período de 2000 até 2009, 3 em 2010, 2 em 2011 e 3 em 2012. Em Minas Gerais foram 42 casos nesse período de 22 anos, sendo que no período de 1990 até 1999 foram 35 casos e no período de 2000 até 2009 foram 6 casos. Em 2010 e 2011 não foram relatados casos nessa região e em 2012 somente 1 caso foi relatado. (2009)

Existem áreas de risco diferenciadas para raiva humana, canina e felina em Minas Gerais (Juiz de Fora está situada em uma área de médio risco), sendo que as áreas de maior risco coincidem com as regiões de menor desenvolvimento socioeconômico do estado.(BRIGGS, 2012)(MIRANDA; SILVA; MOREIRA, 2003)

Em relação aos vetores mais conhecidos e mais comuns, o gato é um hospedeiro acidental do vírus, não desempenhando papel importante no ciclo natural da doença, porém, isso não os exclui de serem vacinados de maneira adequada juntamente com os cães, pois essa medida contribuiu para o baixo número de casos de raiva felina diagnosticados de 2000 a 2006. Esta desaparece assim que a doença é controlada na espécie canina. Estima-se que no estado a população canina está entre 1 cão para cada 8 a 10 pessoas, e a cobertura vacinal está superestimada, não alcançando o nível real de 75% da população canina, necessário para controlar e erradicar a raiva urbana. Segundo a Diretoria regional de Saúde, na macro região de Juiz de Fora, no ano de 1999, estimava-se ter 686.443 habitantes, 68.644 cães oficialmente e 116.695 extra-oficialmente, sendo que destes, 100% dos cães teriam cobertura vacinal oficial e 59,14% extra-oficial. Em relação as amostras submetidas a exames para raiva entre o ano de 1991 e 1999, Juiz de Fora teve 79 amostras submetidas a exames e destas, 2 foram com resultado positivo (2,53%), representando 3,2% das amostras do estado. (BRIGGS, 2012)(MIRANDA; SILVA; MOREIRA, 2003)

Considerando os atendimentos no Serviço da Soroterapia de Juiz de Fora, de uma maneira geral, os atendimentos anti-rábicos encontraram um pico quando comparado à média geral, obtida através da média aritmética entre as médias anuais (148,3 atendimentos/mês) de todos os atendimentos para profilaxia de raiva. Dessa forma, nos meses de janeiro, fevereiro, julho e agosto, se demonstrou a existência de um aumento no número de atendimentos na soroterapia do HPS de Juiz de Fora em relação a média geral dos atendimentos da profilaxia da raiva. Assim, é verdade que nos meses de junho e setembro a novembro, as vacinações se mantiveram próximos da média geral, enquanto que nos meses de março a maio e dezembro, mantiveram-se um pouco mais abaixo da mesma. Outro fato relevante, é que nos meses de maio de 2013 e outubro de 2015 foi quando ocorreram os menores valores desse período (78 e 93, respectivamente), e, em julho de 2016 e novembro de 2014 os maiores valores, com 387 e 269 atendimentos respectivamente (Figura 1).

Ao analisar separadamente as aplicações das vacinas anti-rábicas e comparando com sua média geral (232,3 aplicações/mês), vemos que os meses de julho e agosto apresentam um aumento no número de vacinações, enquanto que nos meses de dezembro a fevereiro e junho,

o valor se mantém próximo a à média geral. Por conseguinte, os meses de março a maio e setembro a novembro se conservaram abaixo da média geral. Dessa forma, é importante ressaltar que nos meses de maio e outubro de 2017 foi quando ocorreram os menores valores desse íterim (150 e 163, respectivamente), e, em julho de 2012 e julho de 2015 os maiores valores 483 e 387 respectivamente (Figura 2).

Quando consideramos pormenorizadamente as administrações do soro anti-rábico, e, comparando com sua média geral (8,8 administrações/mês), inferimos que os meses de janeiro, junho e setembro apresentaram um aumento em seu número, posto que os meses de fevereiro, março, julho, novembro e dezembro se mantiveram de certa forma em uma constante mesmo com umas pequenas variáveis enquanto que abril, maio, agosto e outubro demonstraram uma queda no número de aplicações. Os valores mais altos nesse quesito foram os de janeiro e junho de 2017 (41 e 31 aplicações, respectivamente), enquanto que os mais baixos foram em abril e dezembro de 2013, com 0 aplicações (Figura 3).

Com relação à busca ativa, cuja média geral foi de 35,05 casos/mês, concluímos que os meses de janeiro e fevereiro apresentaram um aumento no número de casos enquanto que os meses de março, abril, junho e outubro continuaram próximos a média geral e, uma diminuição, nos meses de maio, julho a setembro, novembro e dezembro. Os mais altos valores foram encontrados nos meses de janeiro e junho de 2006, com 159 e 118 casos, respectivamente. Já os valores mais baixos foram encontrados nos meses de julho e agosto de 2017 (0 casos em ambos).

A análise dos números obtidos deverá ser feita individualmente, uma vez que os números extremos podem representar sub-notificações e ou excesso de zelo por parte de um ou mais plantonistas que prescreveram de forma omissa ou exagerada a medicação referida.

Com relação aos picos e vales, a maior amplitude se deu no mês de julho para os atendimento anti-rábicos e vacinas aplicadas, enquanto que em relação a busca ativa e as administrações de soro, a maior amplitude se deu no mês de janeiro. Já os meses mais constantes foram os meses de janeiro, abril, junho, setembro e dezembro em relação aos atendimentos anti-rábicos, enquanto que, em relação as vacinas aplicadas, somente os meses de fevereiro e julho mostraram uma maior variação. Em relação às aplicações do soro anti-rábico, os meses de fevereiro, abril, julho, agosto, novembro e dezembro foram os mais constantes, enquanto que em relação às buscas ativas, os meses de maio e setembro se demonstraram mais constantes (Tabela 1).

## CONCLUSÃO

A partir desta avaliação podemos constatar que há necessidade de melhor programação quanto a estoques das vacinas necessárias à profilaxia da Raiva neste nosocômio, uma vez que houve manutenção do número de doses aplicadas durante os anos pesquisados. Exceção a essa condição ocorreu nos meses de fevereiro e julho de 2013 e julho de 2015 quando houve um maior número de vacinações comparados aos anos anteriores. Os gráficos demonstram claramente que poderemos otimizar estoques das geladeiras do Serviço baseado neste levantamento histórico, diminuindo assim, o risco de perda de material e possibilitando economia para a Prefeitura.

Ao analisar os pormenores da sazonalidade desses períodos, se constata que a cidade de Juiz de Fora e região tem um número de vacinações anti-rábicas mantidas próximas a média mensal.

O uso do soro anti-rábico aumentou drasticamente no segundo semestre de 2015 e nos anos de 2016 e 2017, demonstrando uma maior gravidade das lesões ao compararmos aos anos anteriores. O que pode representar um aumento do número de casos de acidentes com animais não observáveis. Dessa forma, o Serviço de Saúde da cidade de Juiz de Fora e região precisa se preparar mais adequadamente com pesquisa e busca ativa dos casos envolvendo animais observáveis.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, A. D. et al. Distribuição espacial e temporal da raiva canina e felina em Minas Gerais, 2000 a 2006. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 4, p. 837–842, ago. 2008.

BRIGGS, D. J. The role of vaccination in rabies prevention. **Current Opinion in Virology**, v. 2, n. 3, p. 309–314, jun. 2012.

GAUTRET, P.; PAROLA, P. Rabies pretravel vaccination: **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 25, n. 5, p. 500–506, out. 2012.

GERMANO, P. M. L. et al. Avaliação de três cepas de vírus rábico, antigenicamente distintas, em camundongos: I - Estudo dos períodos de observação clínica. **Revista de Saúde Pública**, v. 22, n. 5, p. 375–383, out. 1988.

HICKS, D. J.; FOOKS, A. R.; JOHNSON, N. Developments in rabies vaccines: Developments in rabies vaccines. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 169, n. 3, p. 199–204, set. 2012.

JACKSON, A. C. Therapy of Human Rabies. In: **Advances in Virus Research**. [s.l.] Elsevier, 2011. v. 79p. 365–375.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Normas técnicas em vigilância e saúde**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde / MS, 2009. v. v.1

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Normas Técnicas de Profilaxia da Raiva Humana**. São Paulo: [s.n.]. v. v. 1

MIRANDA, C. F. J. DE; SILVA, J. A. DA; MOREIRA, É. C. Raiva humana transmitida por cães: áreas de risco em Minas Gerais, Brasil, 1991-1999. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 91–99, fev. 2003.

Protocolo para tratamento de raiva humana no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 18, n. 4, dez. 2009.

# CAPÍTULO 5

## EFEITOS DA TERAPIA A LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA CICATRIZAÇÃO DE INCISÕES CIRÚRGICAS NA PELE DE RATOS

**Sergio Ibañez Nunes**, Mestre em Cirurgia, Doutor em Medicina Professor da Faculdade de Medicina, UniFOA.

**Thais Barros Corrêa Ibañez**, Mestre em Ensino em Ciências da Saúde, Instrutora de ACLS do Instituto Lóbus

**Marcelo Barros Weiss**, Mestre em terapia intensiva, Doutor em saúde pública, Professor da faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

**Marcos Guimarães de Souza Cunha**, Mestre e Doutor Professor da Faculdade de Medicina, UniFOA

**Mariana Silva Cunha**, Faculdade de Medicina, UniFOA

**Douglas Barros Corrêa**, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

### RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Os efeitos terapêuticos do laser baixa potência sobre os diferentes tecidos biológicos são muito amplos, incluindo efeitos trófico-regenerativos, antiinflamatórios e analgésicos., em especial, a sua ação angiogênica, incremento da atividade fibroblástica e colagenogênese, beneficiando, portanto, a cicatrização. Efeitos à distância, fora do local de aplicação, também são descritos quando utilizada a terapia. **MÉTODOS:** 20 ratos *Wistar Albinus*. divididos em 4 grupos, submetidos a quatro incisões lineares no sentido longitudinal na pele do dorso, após abertas, foram suturadas No Grupo 1 (G1) os animais foram submetidos à aplicação uma dose de laser, no Grupo 2 (G2), duas doses de laser, no pós-operatório imediato e após 24 horas de pós-operatório, no Grupo 3 (G3) três doses de laser como os do G2 e mais uma na 48ª hora de pós-operatório e o Grupo Controle (GC) submetido exclusivamente às incisões da pele, não recebendo nenhuma aplicação de laser em nenhum dos ferimentos. Sendo após realizados teste de força de ruptura com equipamento desenvolvido pelos pesquisadores e estudo histopatológico das incisões. **RESULTADOS:** As médias da força de ruptura das feridas tratadas e do grupo controle, observa-se que o grupo 1 apresenta o maior valor, tendo diferença significativa ( $p = 0,040$ ). As freqüências da força de ruptura dos quatro grupos de ratos para as feridas não tratadas não houve diferença significativa ( $p = 0,459$ ). Esses resultados sugerem não haver efeito à distância do local de aplicação do Laser. Na análise pareada, a comparação das freqüências das diferenças da força de ruptura registradas dos ferimentos produzidos no mesmo animal, feridas tratadas com Laser e não tratadas nos grupos 1, 2, 3 e controle, não constatou diferença estatisticamente significativa entre os 4 grupos de animais ( $p = 1,000$ ). A comparação da freqüência das feridas tratadas dos quatro grupos de ratos segundo a epitelização observou-se que o grupo 3 é maior ( $p = 0,002$ ). Nos grupos não tratados não foi possível detectar diferença significativa ( $p = 0,805$ ) entre eles. Em relação à reação inflamatória das feridas tratadas e não tratadas no grupo controle, da direita e esquerda não foram significativas estatisticamente. Quanto à granulação nas feridas tratadas com laser foi maior no grupo que recebeu maior número de aplicações ( $p = 0,012$ ). **CONCLUSÃO:** conclui-se que, os resultados discutidos mostram que os efeitos benéficos da terapia a laser no processo cicatricial não foram confirmados quando utilizado o adequado método de análise estatística para o experimento.

**PALAVRAS CHAVE:** Laser de baixa potência; Cicatrização; Incisão cirúrgica

## INTRODUÇÃO

As radiações do tipo laser de baixa potência, com espectros de ondas eletromagnéticas situadas nas faixas entre 690 a 940 nm, tornaram-se objeto de inúmeras pesquisas científicas, enfocando em especial, a sua ação angiogênica, incremento da atividade fibroblástica e colagenogênese, beneficiando, portanto, a cicatrização. (TAVARES, 2002)

Os efeitos terapêuticos do laser sobre os diferentes tecidos biológicos são muito amplos, incluindo efeitos trófico-regenerativos, antiinflamatórios e analgésicos. Tais efeitos são demonstrados em estudos tanto *in vitro* como *in vivo*, destacando-se a proliferação de células epiteliais e fibroblásticas, o aumento da microcirculação local, assim como o aumento na síntese de colágeno (TAVARES, 2002) (TATARUNAS; MATERA; DAGLI, 1998) (ROCHA, 2004). Efeitos à distância, fora do local de aplicação, também são descritos quando utilizada a terapia (TAVARES, 2002) (BRAVERMAN et al., 1989) (HOPKINS et al., 2004).

Apesar da maioria dos estudos demonstrar que a utilização do laser de baixa potência é positiva para o processo de cicatrização de tecidos moles (TAVARES, 2002) (TATARUNAS; MATERA; DAGLI, 1998) (ROCHA, 2004), incluindo aspectos histológicos e biomecânicos como o aumento de força de tensão dos ferimentos (FILHO et al., 2005) (POSTEN et al., 2006), e para a diminuição dos sintomas dolorosos advindos de procedimentos clínicos e/ou cirúrgicos (TAVARES, 2002) (TATARUNAS; MATERA; DAGLI, 1998) (ROCHA, 2004), porém há relatos na literatura da ausência destes benefícios (FILHO et al., 2005) (POSTEN et al., 2006) (ANNEROTH et al., 1988) (ALLENDORF et al., 1997).

Esses dados conflitantes resultam em dúvidas plausíveis sobre as variações nos métodos de tratamento e limitações dos projetos experimentais (POSTEN et al., 2006). Não existem parâmetros considerados ideais para obtenção dos benefícios na aplicação da terapia a laser, o que dificulta a determinação e compreensão de seus efeitos (POSTEN et al., 2006).

Este estudo pretende avaliar a existência de benefícios da terapia a laser de baixa potência no processo cicatricial de feridas na pele de ratos, sugerir o número de aplicações necessárias para potencializar a cicatrização, assim como, avaliar um possível efeito a distância do local de aplicação da terapia.

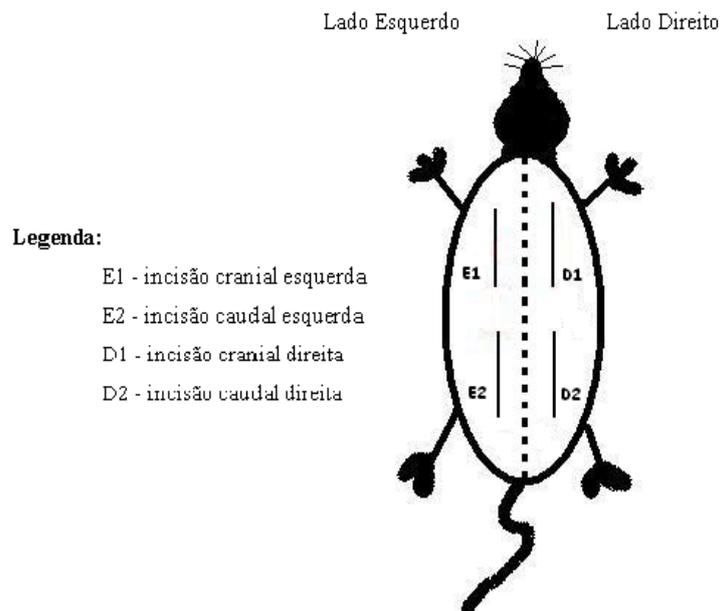
## MÉTODOS

Foram utilizados 20 ratos para investigar a relação entre terapia a laser de baixa potência e o processo cicatricial de incisões cirúrgicas na pele de ratos, avaliando a força de ruptura e os achados histopatológicos. Os ratos, da raça *Wistar Albinus*, todos fêmeas, com peso entre 122

a 200 gramas e aproximadamente 100 dias de idade, foram selecionados casualmente entre os existentes no biotério da Faculdade de Medicina de Barbacena.

Todos animais foram submetidos a quatro incisões lineares no sentido longitudinal na pele (epiderme, derme e plano subcutâneo) do dorso, sendo duas do lado esquerdo e duas do lado direito. Todas as incisões foram feitas sobre duas linhas paralelas à coluna vertebral, as linhas ficaram dispostas a 1 cm da coluna em cada lado do animal. Sobre cada linha foram feitas duas incisões medindo cada uma 3 cm, dispostas no sentido crânio-caudal e separadas entre si por 2 cm de pele íntegra. (Figura 1). Todas as incisões, após abertas, foram suturadas por 3 pontos simples com fio de nylon 5/0.

**Figura 1:** Representação gráfica das incisões cirúrgicas no dorso do rato.



**Fonte:** Os autores

Para realização do estudo, os ratos foram igualmente divididos em 4 grupos: No Grupo 1 (G1) os animais foram submetidos à aplicação do laser no pós-operatório imediato e não mais receberam tratamento até o fim do experimento. No Grupo 2 (G2) os animais receberam a aplicação do laser também no pós-operatório imediato e após 24 horas de pós-operatório. Já no Grupo 3 (G3) os animais foram tratados como os do G2 além de uma aplicação de laser após a 48ª hora de pós-operatório, totalizando 3 aplicações e os ratos do Grupo Controle (GC). foram submetidos exclusivamente às incisões da pele, não recebendo nenhuma aplicação de laser em nenhum dos ferimentos.

A terapia a laser foi realizada somente nas feridas cirúrgicas do lado esquerdo, cranial e caudal, nos animais dos três grupos de tratamento (G1, G2 e G3). Todos os animais receberam em cada aplicação a mesma dosagem variando apenas o número de aplicações.

Foi utilizado aparelho de laser de diodo de baixa potência, AsAlGa (Three Light Plus da empresa Clean Line, registro 80210180006 – ANVISA), com a seguinte modulação: laser de emissão infravermelho contínua; comprimento de onda de 795 nm; potência 120 mW, e dose de 4 J/cm<sup>2</sup>, sendo essa modulação sugerida pela literatura científica (TAVARES, 2002) (TATARUNAS; MATERA; DAGLI, 1998) (ROCHA, 2004) (PUGLIESE et al., 2003) (RODRIGUES, 2006) (VIEIRA, 2006). O tempo de aplicação é programado pelo próprio aparelho a partir da modulação estabelecida pelo operador. Durante a aplicação do laser foi colocado um dispositivo de isolamento sobre as feridas não irradiadas com a intenção de que a aplicação fosse exclusiva à uma única incisão. Tal dispositivo foi constituído por um material impermeável à luz no espectro visível.

A aplicação do laser foi feita nos animais dos grupos experimentais G1, G2 e G3. As feridas tratadas foram divididas em 5 pontos imaginários de 6 mm cada. Cada um desses pontos recebeu a terapia a laser de forma pontual por 33 segundos/ponto, de tal forma que, o tempo de tratamento de cada ferida foi de 165 segundos, compreendendo toda sua extensão de forma homogênea.

Os animais foram mortos no quarto dia de pós-operatório com doses tóxicas de cetamina a 10% por via intraperitoneal, sucedendo-se a retirada de fragmentos de pele do dorso e posterior realização do teste de força de ruptura e estudo histopatológico das incisões. Nesse processo, inicialmente foi aplicada dose anestésica e posteriormente dose letal para coleta de fragmentos da pele por biópsia excisional.

As duas incisões craniais de ambos os lados foram utilizadas para teste de força de ruptura e as caudais para testes histopatológicos. As incisões craniais foram retiradas com margens de 3,0 cm (comprimento) x 2,0 cm (largura) x 0,3 cm (profundidade) para avaliação da força de ruptura. Para esta análise foi utilizado um aparelho idealizado e construído pelos pesquisadores, baseado em um instrumento produzido e utilizado em trabalho prévio (JUNIOR et al., 2008). A aparelhagem (figura 2) é composta por uma base de madeira que contém uma extremidade fixa e uma móvel, sendo que ambas possuem uma pinça do tipo De Martel que fixa as bordas do tecido excisionado. Acoplado à pinça móvel, através de uma roldana, existe uma bolsa coletora de líquidos, e à medida que essa é preenchida por água acaba por provocar

o afastamento das extremidades do fragmento gerando tensão e conseqüente ruptura da incisão cirúrgica cicatrizada. A partir daí, o volume do líquido que provocou a ruptura é mensurado em gramas, obtendo assim, o peso correspondente à força de ruptura.

**Figura 2** : Aparelhagem de aferição da força de ruptura



Vista panorâmica (A); vista lateral (B); e vista superior (C) da aparelhagem.

**Fonte:** Os autores

A análise histopatológica foi feita em fragmentos retirados das incisões caudais que também sofreram biópsias excisionais da mesma forma das incisões craniais, no mesmo momento. As amostras foram colocadas em formalina tamponada à 10% e identificadas. O material retirado foi processado, incluído em parafina, realizados cortes de 4  $\mu$ m de espessura e corados com hematoxilina-eosina e tricrômico de Gomori, para posterior análise à microscopia óptica de luz (MO). Esses fragmentos biopsiados foram avaliados pelos autores da pesquisa em uma análise subjetiva e comparativa em relação a um escore de cruzes adaptado (SIMÕES et al., 2006) (quadro 1). Para análise e comparação histopatológica foram avaliados a epitelização, a reação inflamatória, a existência de tecido de granulação e de fibrose, como descrito no quadro 1.

**Quadro 1:** Escore para análise histopatológica

Epitelização	
+	Presença de espessa crosta fibrinoleucocitária sobre a ferida à MO no aumento de 10x; delgada epitelização com a presença de apenas uma camada (camada basal) à MO no aumento de 40x.
++	Presença de delgada crosta fibrinoleucocitária sobre a ferida à MO no aumento de 10x; espessa epitelização com a presença de mais de uma camada na epiderme com pouca organização das mesmas à MO no aumento de 40x.
+++	Rara presença de crosta fibrinoleucocitária sobre a ferida à MO no aumento de 10x; epitelização completa com epiderme espessa e camadas organizadas à MO no aumento de 40x.
Reação Inflamatória	
+	Acentuada, quando existiu infiltração de células inflamatórias visível ao pequeno aumento do MO (10x).
++	Discreta, quando foi preciso aumentos maiores que o aumento de 10x no MO para identificação da infiltração de células inflamatórias.
Tecido de Granulação	
+	Quando se observou a presença de neovasos a MO no aumento de 10x e contados até 7 vasos por campo no aumento de 40x.
++	Quando se observou a presença de neovasos a MO no aumento de 10x e contados mais de 7 vasos por campo no aumento de 40x.
Fibrose	
+	Ausente, quando não foram observados depósitos de fibras colágenas nos vários aumentos do MO.
++	Presentes, quando foram observados depósitos de fibras colágenas nos vários aumentos do MO.

A análise dos dados foi realizada em microcomputadores com recursos de processamento estatístico no software STATA 9.2. Foram construídas distribuições de frequência e calculadas as médias e desvios padrões para cada variável. O efeito do tratamento foi testado em tabela de contingência tipo RxC e em tabelas de ANOVA ONE WAY. A aferição do significado estatístico das comparações foi realizada através do Teste de Quiquadrado no

caso de comparação de percentagens, ou do Teste de Fisher para tabelas de ANOVA no caso de comparação de médias. O Teste de Kruskal Wallis foi utilizado na comparação de grupos que não puderam ser comparados com o Teste de Fisher.

Foram feitas dois tipos de análises, não pareada e pareada. A análise não pareada foi realizada com a comparação das frequências e das médias das medidas originais feitas nos ferimentos sem qualquer modificação entre os grupos. A análise pareada foi realizada com as diferenças das medidas feitas nos ferimentos do lado direito e esquerdo de cada animal. Na avaliação da epitelização, reação inflamatória, granulação e fibrose, cada animal foi caracterizado como portador de variação positiva do resultado de um ferimento quando comparado com o outro e portador de variação negativa quando ambos os ferimentos apresentaram o mesmo resultado da avaliação histopatológica. O grau de significância estatística adotado na análise foi de 5 %.

Os animais foram identificados por números de 1 a 5 em cada grupo, alocados em gaiolas contendo 5 animais e mantidos em armários climatizados. Os animais receberam alimentação à base de ração e água, sem restrições.

Todos os procedimentos com os animais foram registrados e procurou-se diminuir o tempo de manipulação das lesões. Pretendeu-se ainda induzir a inconsciência nos animais, o mais rápido possível, para o momento da morte, objetivando-se assim reduzir o sofrimento dos mesmos.

O presente estudo seguiu as normas de pesquisa em animais e os princípios éticos na experimentação, definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), como também as resoluções sobre pesquisa animal definidas pela convenção de Helsinki (1995) e sua revisão na Escócia 2000. Seguiu também as resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). A proposta do presente estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da UNIPAC através do protocolo 367/8, aprovado em dezembro de 2008.

## **RESULTADOS**

Relata-se os resultados de um experimento de laboratório com ratos e grupo controle, realizado para investigar a relação entre terapia a Laser de baixa potência e o processo cicatricial de incisões cirúrgicas na pele de ratos, avaliando a força de ruptura e os achados histopatológicos.

Durante o procedimento cirúrgico não foi observada nenhuma intercorrência que prejudicasse o processo cicatricial por primeira intenção, como a presença de sangramento ativo

importante e a presença de deiscências nas suturas. Já no pós-operatório foram documentadas perdas de pontos cirúrgicos de algumas suturas e conseqüente presença de deiscências nas seguintes feridas: direita caudal de um rato do GC, esquerda caudal de um rato do G2, e direita caudal de dois ratos do G3. Não foram observados sinais de seroma, hematoma e infecção.

Nas tabelas abaixo, E1, representa a cicatriz cranial do lado esquerdo e E2, representa a cicatriz caudal também do lado esquerdo sendo que ambas receberam laserterapia. A cicatriz do lado direito cranial foi representada por D1 e a cicatriz caudal também do lado direito foi representada por D2, lembrando que ambas não receberam laserterapia (Figura 1).

O melhor detalhamento das características dos animais é apresentado na tabela 1, onde são apresentadas as distribuições de freqüência das características dos animais presentes em cada grupo do estudo, representadas pelo peso, força de ruptura das cicatrizes e resultados do exame histológico dos ferimentos, discriminados pelos grupos. Na tabela é também apresentado o valor de p encontrado no Teste Exato de Fisher aplicado na aferição do significado estatístico das diferenças entre os percentuais.

Tabela 1: Distribuição de freqüência das características dos ratos e resultados das medidas efetuadas no experimento, discriminadas pelos grupos de animais tratados e controle.

Características	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo C		p
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Peso (g)									
120 – 180	1	20,0	4	80,0	3	60,0	2	40,0	0,459
181 – 200	4	80,0	1	20,0	2	40,0	3	60,0	
Força de ruptura das feridas tratadas e grupo controle - E1 - (Newtons)									
1,3 - 3,6	1	20,0	4	80,0	2	40,0	4	80,0	0,226
3,6 – 6,4	4	80,0	1	20,0	3	60,0	1	20,0	
Força de ruptura das feridas não tratadas e grupo controle – D2 - (Newtons)									
0,99 – 3,7	2	40,0	1	20,0	3	60,0	4	80,0	0,459
3,71 – 8,4	3	60,0	4	80,0	2	40,0	1	20,0	
Epitelização das feridas tratadas e grupo controle - E1 -									
+	1	20,0	0	0,0	0	0,0	4	80,0	0,002
++	4	80,0	4	80,0	1	20,0	1	20,0	
+++	0	0,0	1	20,0	4	80,0	0	0,0	

Características	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo C		p
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Epitelização das feridas não tratadas e grupo controle - D2 -									
+	3	60,0	2	40,0	1	20,0	3	60,0	0,805
++	2	40,0	3	60,0	3	60,0	2	40,0	
+++	0	0,0	0	0,0	1	20,0	0	0,0	
Reação Inflamatória das feridas tratadas e grupo controle - E1 -									
+	5	100,0	5	100,0	5	100	5	100,0	--
++	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Reação Inflamatória das feridas não tratadas e grupo controle - D2 -									
+	5	100,0	5	100,0	5	100,0	5	100,0	--
++	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Granulação das feridas tratadas e grupo controle - E2 -									
+	4	80,0	3	60,0	0	0,0	5	100,0	0,012
++	1	20,0	2	40,0	5	100,0	0	0,0	
Granulação das feridas não tratadas e grupo controle - D2 -									
+	5	100,0	4	80,0	2	40,0	5	100,0	0,128
++	0	0,0	1	20,0	3	60,0	0	0,0	
Fibrose das feridas tratadas e grupo controle - E2 -									
+	5	100,0	5	100,0	5	100,0	5	100,0	--
++	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Fibrose das feridas não tratadas e grupo controle - D2 -									
+	5	100,0	5	100,0	5	100,0	5	100,0	--
++	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	

Fonte: Próprios Autores

Na tabela 2 são apresentadas as distribuições de frequência das diferenças observadas entre as medidas realizadas nas cicatrizes do lado esquerdo e direito de cada animal, em cada um dos grupos. São apresentados também os resultados do Teste Exato de Fisher (p), aplicados na comparação dos percentuais exibidos na tabela.

Tabela 2: Distribuição de frequência das diferenças da força de ruptura, da epitelação e da granulação obtidas das cicatrizes do lado esquerdo e direito de cada animal por grupo e indicativos de variação positiva ou negativa dos elementos encontrados nas duas cicatrizes na pesquisa de força de ruptura, epitelação e granulação dos animais dos 4 grupos experimentais.

Característica	Grupo 1		Grupo2		Grupo3		Grupo C		p
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Força de ruptura (Newtons)									
0 – 30	2	40,0	2	40,0	3	60,0	3	60,0	1,000
40 – 0 (-)	3	60,0	3	60,0	2	40,0	2	40,0	
Epitelização									
Positivo	2	40,0	3	60,0	3	60,0	1	20,0	0,762
Negativo	3	60,0	2	40,0	2	40,0	4	80,0	
Granulação									
Positivo	1	20,0	1	20,0	2	40,0	0	0,0	0,871
Negativo	4	80,0	4	80,0	3	60,0	5	100,0	

Fonte: Próprios Autores

Na tabela 3 são apresentadas as médias e desvios-padrões do peso dos animais e da força de ruptura mensurada nas cicatrizes nos diferentes grupos. São apresentados também os resultados do Teste Exato de Fisher (F), para as tabelas de ANOVA, e Kruskal-Wallis (Kw), com os respectivos valores de p correspondentes.

Tabela 3: Médias e desvios padrões do pesos, forças de ruptura e diferenças da forças de ruptura registradas para os animais dos 4 grupos do experimento.

Característica	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo C	F/Kw	p
Peso (g)						
Média	184.4	169.6	179.6	169.2	5.49	0.139
Desvio padrão	6.6	10.7	14.9	29.0		
Força de ruptura E1(Newtons)						
Média	4.9	3.0	4.3	3.1	3.50	0.040
Desvio padrão	1.1	1.3	1.2	0.6		
Força de ruptura D1(Newtons)						
Média	5.6	3.9	3.8	3.2	1.95	0.163

Desvio padrão	2.2	1.8	1.1	0.7		
Diferença da força de ruptura						
Média	-0.6	-0.9	-0.4	-0.1	0.64	0.600
Desvio padrão	1.9	1.8	1.9	0.4		

---

Fonte: Próprios Autores

## DISCUSSÃO

A aplicação do laser na área médica teve um crescimento significativo nas últimas décadas, sendo utilizada para fins cirúrgicos e terapêuticos. Dentre as inúmeras descobertas notáveis em todas as áreas de crescimento, o laser tem ocupado posição de destaque (VIEIRA, 2006). A terapia a laser de baixa potência é método aceito pela Food and Drug Administration (FDA) como tratamento clínico eficaz na cicatrização de tecidos (SUGRUE et al., 1990) (CHROMEY, 1992).

O comprimento de onda do laser que determina sua utilização para fins terapêuticos e que o caracteriza como sendo de baixa potência está localizado entre 600 e 1000 nm (VIEIRA, 2006). Nesta faixa obtém-se um poder de penetração em torno de 1,4 mm o que justifica seu uso em diferentes tecidos para o reparo cicatricial, incluindo o tecido cutâneo, onde se observa um número expressivo de pesquisas (TAVARES, 2002).

O laser de baixa potência com densidade de energia na faixa de 3 a 6 J/ cm<sup>2</sup> é considerado adequado por possuir melhores efeitos cicatrizantes, reparativos e regenerativos em diversos tecidos, tanto em humanos quanto em animais (TAVARES, 2002) (TATARUNAS; MATERA; DAGLI, 1998) (ROCHA, 2004) (PUGLIESE et al., 2003) (RODRIGUES, 2006) (VIEIRA, 2006). Valores inferiores ou superiores de dosagem ao intervalo citado anteriormente, não demonstraram resultados satisfatórios, sendo que doses mais altas demonstraram inibição da biomodulação celular e doses mais baixas não demonstraram ação efetiva no processo cicatricial (VIEIRA, 2006).

Considerando tais aspectos, foi definido para o estudo pela utilização de um aparelho laser diodo de baixa potência com fonte de emissão AsAlGa com a seguinte modulação: laser de emissão infravermelho contínua; comprimento de onda de 795 nm; potência 120 mW, e dose de 4 J/cm<sup>2</sup>.

Em relação à frequência de aplicação do laser existem variações (BRAVERMAN et al., 1989) (RODRIGUES, 2006) (VIEIRA, 2006) (ANDERS et al., 2002) (CARRILLO et al., 1990). Vários esquemas posológicos já foram testados, como por exemplo; 3 aplicações, sendo essas realizadas no pós operatório imediato, 24 horas e 7 dias após (RODRIGUES, 2006); aplicações diárias por 3 dias consecutivos (ANDERS et al., 2002); e apenas uma única aplicação (BRAVERMAN et al., 1989) (VIEIRA, 2006) (CARRILLO et al., 1990). Essas entre outras pesquisas sugerem que apenas uma aplicação não seria suficiente para alcançar algum efeito celular benéfico, e que um maior número de aplicações é necessário para atingir tal benefício (BRAVERMAN et al., 1989) (ANNEROTH et al., 1988) (RODRIGUES, 2006) (VIEIRA, 2006) (ANDERS et al., 2002) (CARRILLO et al., 1990).

A terapia a laser de baixa potência possui efeitos fisiológicos que são divididos em primários (diretos), secundários (indiretos) e terapêuticos. Entre os efeitos primários merecem destaque os bioquímicos (liberação de histamina, serotonina e bradicinina, produção de ATP, inibição de prostaglandinas e lise de fibrina), bioelétrico (potencialização da bomba de sódio/potássio) e bioenergéticos (normalização do contingente energético e físico de cada indivíduo). Dentre os secundários enfatizam-se o estímulo à microcirculação com conseqüente fluxo sanguíneo aumentado, e o estímulo ao trofismo celular, aumentando a velocidade de cicatrização e otimizando o trofismo tecidual. Como efeitos terapêuticos são sugeridos o analgésico, antiinflamatório, antiedematoso e cicatricial (TAVARES, 2002).

Dentre os efeitos terapêuticos propostos pelo laser, a cicatrização tem uma posição de destaque, sugerindo-se que seus efeitos devam-se ao incremento à produção de ATP, que proporcionaria um aumento da atividade mitótica e a síntese protéica, tendo como conseqüência o aumento da regeneração tecidual no processo de reparação; o estímulo à microcirculação e a formação de novos vasos a partir dos preexistentes, sendo que estes aumentariam o aporte nutricional e a velocidade mitótica; e por fim a estimulação da matriz colagenosa (TAVARES, 2002).

Entretanto, há relatos da ausência de benefícios no processo cicatricial mediante o tratamento com o laser de baixa potência (ANNEROTH et al., 1988) (ALLENDORF et al., 1997). Em estudo de revisão de literatura sobre os efeitos do laser de baixa potência no processo de cicatrização, há relatos que houve uma discordância em relação aos resultados obtidos com o uso da terapia (FILHO et al., 2005) (POSTEN et al., 2006). Esses dados conflitantes resultam em dúvidas plausíveis quanto às variações nos fatores de tratamento e limitações em projetos experimentais (POSTEN et al., 2006).

Os benefícios da terapia a laser no processo cicatricial baseiam-se em sua maioria em experimentos que utilizam comparações entre feridas de grupos experimentais com o grupo controle (TAVARES, 2002) (TATARUNAS; MATERA; DAGLI, 1998) (ROCHA, 2004) (PUGLIESE et al., 2003) (RODRIGUES, 2006) (VIEIRA, 2006). Há poucos relatos de estudos com comparação pareada, em que a lesão tratada e a não tratada (lesão controle) encontram-se no mesmo animal, o que reduziria as influências individuais dos animais, caso estas sejam relevantes no processo cicatricial (DAMANTE, 2003).

No presente estudo ao analisar a frequência dos pesos dos animais nos quatro grupos, observa-se que não houve diferenças significativas entre eles, ou seja, estas medidas são comparáveis, de forma que o peso não deve interferir com os resultados do experimento. Essa característica dos animais pode ter sido eliminada durante a alocação aleatória dos ratos em seus respectivos grupos, não sendo encontrado na literatura científica referências que relacionam a influência do peso e processo cicatricial com a terapia a laser.

Na comparação, entre os grupos, da frequência da força de ruptura das feridas à esquerda, tratadas com laser nos grupos 1, 2 e 3 e não tratadas no grupo controle, constatou-se que a maior frequência dos maiores valores de força de ruptura foram obtidos no grupo 1, os menores valores foram encontrados nos grupos 2 e grupo controle e valores intermediários foram observados no grupo 3. A diferença entre os quatro grupos não é significativa ( $p = 0,226$ ). No entanto, ao se comparar as médias da força de ruptura das feridas tratadas e do grupo controle, observa-se que o grupo 1 apresenta o maior valor, tendo diferença significativa ( $p = 0,040$ ). Esse resultado sugere que o menor número de aplicações promove aumento na força de ruptura das feridas quando analisadas no 4º dia de pós-operatório.

As frequências da força de ruptura dos quatro grupos de ratos para as feridas à direita, não tratadas com terapia a Laser em todos os grupos, quando comparadas, não foi possível detectar diferença significativa ( $p = 0,459$ ), sendo que o grupo que apresentou a maior frequência dos maiores valores foi o grupo 2 e maior frequência dos menores valores foi o grupo controle. Na comparação das médias das forças de ruptura também dos ferimentos à direita, nota-se que a maior média foi evidenciada no grupo 1 e a menor média no grupo controle. Essa comparação não apresenta diferença significativa ( $p = 0,163$ ). Esses resultados sugerem não haver efeito à distância do local de aplicação do Laser, concordando com o resultado obtido na comparação das feridas do lado esquerdo e reforçando a idéia de que existe uma aparente associação entre a terapia a laser puntual e a força de ruptura.

Há incremento da força de ruptura após utilizar terapia a laser de baixa potência na densidade de 2 ou 4J/cm<sup>2</sup>, quando analisa-se feridas da pele de ratos no 7º dia de pós-operatório (YASUKAWA et al., 2007), concordando com os achados acima descritos. Entretanto, não foi encontrado diferença na força de ruptura de fragmentos de pele entre ratos irradiados e não irradiados quando utilizada terapia a laser de baixa potência (ALLENDORF et al., 1997). Vale ressaltar que estes trabalhos basearam-se em comparações não pareadas.

A fim de se obter um adequado efeito local, recomenda-se que durante a irradiação a caneta do aparelho deva ser posicionada a um ângulo de 90º e estar em contato direto com o sítio da lesão, diminuindo assim, o índice de dispersão das ondas eletromagnéticas (TAVARES, 2002). No entanto, há evidências da possibilidade de surgirem efeitos à distância, parecendo não haver a necessidade de irradiação direta da lesão ou tecido alvo para conseguir-se a ação terapêutica do laser de baixa potência (BRAVERMAN et al., 1989) (HOPKINS et al., 2004).

Na análise pareada, a comparação das frequências das diferenças da força de ruptura registradas dos ferimentos produzidos no mesmo animal, feridas tratadas com Laser e não tratadas nos grupos 1, 2, 3 e controle, não constatou diferença estatisticamente significativa entre os 4 grupos de animais ( $p = 1,000$ ). Esse achado sugere, contrariamente à comparação não pareada, não haver relação entre a terapia a laser e o aumento da força de ruptura nas feridas. Esta hipótese é reforçada quando se analisa a média das diferenças das forças de ruptura registradas para os animais dos 4 grupos do experimento, ao observar que a mesma não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,600$ ).

Na literatura científica não foi possível encontrar estudos que realizam análises pareadas comparando terapia a laser e força de ruptura no 4º dia de pós-operatório. Entretanto, em estudo pareado, foi encontrado ao final de 21 dias, aumento significativo da força de ruptura entre feridas tratadas com laser em relação à feridas não tratadas, em um experimento que avaliou a influência da terapia a laser de baixa potência na cicatrização de ferimentos cirúrgicos em ratos diabéticos (KESAVA REDDY, 2003).

O confronto dos resultados obtidos com os diferentes métodos de comparação sugere ser improvável existir relação entre a força de ruptura e a cicatrização, e que, a associação encontrada na análise não pareada é apenas aparente, sendo justificada mais pelo método de avaliação do que uma real associação física-biológica entre a terapia a laser e a cicatrização.

O método utilizado para análise da força de ruptura mostrou-se apropriado e eficaz, uma vez que minimizou possíveis *bias* de aferição, apesar de ser um instrumento artesanal e inédito criado pelos próprios pesquisadores.

Na análise dos resultados a comparação da frequência dos quatro grupos de ratos segundo a epitelização das feridas à esquerda, tratadas com laser nos grupos 1, 2 e 3 e não tratadas no grupo controle, observou-se que o grupo com maior número de aplicações da terapia a laser, grupo 3, é o que apresenta índices de epitelização mais intensa com maior frequência, enquanto que no grupo controle observou-se uma maior frequência de epitelização com menor intensidade. Índices intermediários de epitelização foram notados nos grupos que receberam uma ou duas aplicações. A diferença entre os 4 grupos é significativa ( $p = 0,002$ ), sugerindo aparentemente que um maior número de aplicações de terapia a laser pode estimular uma maior intensidade de epitelização.

Na comparação das frequências de intensidade de epitelização nos ferimentos à direita, não tratados com terapia a laser, apresentados pelos grupos do experimento, não foi possível detectar diferença significativa ( $p = 0,805$ ) entre eles, apesar das feridas à direita do grupo controle apresentarem mais frequentemente menor índice de epitelização, em comparação com os grupos que receberam duas ou três aplicações na ferida contralateral. Essa análise sugere não haver efeito à distância do local de aplicação do laser. Esse resultado concorda com o resultado obtido na comparação das feridas do lado esquerdo e reforça a idéia de que existe uma aparente associação entre a laserterapia puntual e a epitelização.

Observou-se aumento da migração epitelial no 1º, 3º, e 7º dias de pós-operatório em trabalho que utilizou terapia a laser de baixa potência na dosagem de  $4\text{J}/\text{cm}^2$  em feridas cirúrgicas na pele de ratos (MINATEL et al., 2006), assim como foi encontrada melhora da epitelização da ferida no 7º dia de pós-operatório ao utilizar laser de baixa potência, com 2 ou  $4\text{J}/\text{cm}^2$  de densidade (YASUKAWA et al., 2007). O oposto foi visto quando utilizou-se terapia a laser de baixa potência com diferentes potências,  $3,8\text{ J}/\text{cm}^2$ ,  $4,0\text{ J}/\text{cm}^2$  e  $8,0\text{ J}/\text{cm}^2$ , para o tratamento de feridas cirúrgicas no dorso de ratos, não constatando-se diferenças no processo de epitelização quando comparadas com os grupos controles que não receberam tratamento com laser (RODRIGUES, 2006).

Mas deve ser notado que essa associação se baseia em comparação não pareada que não leva conta a possibilidade de se instituir dois tipos de tratamentos, irradiação e não irradiação, em dois ferimentos produzidos no mesmo animal.

Na comparação da frequência dos quatro grupos de ratos segundo a reação inflamatória das feridas à esquerda, tratadas com laser nos grupos 1, 2 e 3 e não tratadas no grupo controle, e das feridas à direita, que não receberam terapia a laser em todos dos grupos, notou-se que o índice de infiltrado inflamatório permaneceu idêntico para todas as feridas independentemente do grupo a que pertencia o rato. As diferenças observadas não foram significativas estatisticamente. A metodologia utilizada para quantificar as características histológicas da reação inflamatória parece não ter sido eficiente para a distinção dos graus de infiltrado inflamatório dos grupos.

Há relatos da utilização da terapia a laser de baixa potência em feridas cutâneas no dorso de ratos, constatando-se menor quantidade de células inflamatórias nos grupos que receberam o tratamento quando comparados com os grupos controles que não receberam (YASUKAWA et al., 2007) (MINATEL et al., 2006) (ROCHA JÚNIOR et al., 2007). Contrariamente, em experimento que usou terapia a laser de baixa potência, também para o tratamento de feridas no dorso de ratos, foi detectado aumento das células inflamatórias nos grupos irradiados quanto comparados com o grupo controle que não recebeu qualquer tratamento (RODRIGUES, 2006).

Na comparação da frequência dos 4 grupos de ratos segundo a granulação nas feridas à esquerda tratadas com laser nos grupos 1, 2 e 3 e não tratadas no grupo controle, observa-se que o índice de formação do tecido de granulação mais intenso ocorreu com maior frequência, em todos os animais do grupo que recebeu maior número de aplicações e o grupo que obteve a maior frequência da menor intensidade de granulação foi o grupo controle. Os grupos de animais que receberam uma ou duas aplicações apresentaram frequências variadas em relação aos índices de granulação, com frequências inferiores ao grupo com maior número de aplicações. Essa comparação apresenta diferença estatística ( $p = 0,012$ ), sugerindo aqui também, que o maior número de aplicações da terapia a laser seja aparentemente benéfico no incremento do processo de granulação.

Para a granulação das feridas à direita, que não receberam terapia a laser em todos dos grupos, a comparação das frequências entre os quatro grupos não demonstrou diferenças significativas estatisticamente ( $p = 0,128$ ), sugerindo não haver efeito à distância do local da aplicação. Os dados reforçam a idéia de que existe uma aparente associação entre a laserterapia puntual e a granulação, mas esses resultados são obtidos também na comparação não pareada dos quatro grupos de animais.

A maturidade e a proliferação vascular do tecido de granulação foi evidenciada em maior intensidade nas feridas cirúrgicas da pele de ratos tratados com terapia a laser de baixa potência em relação às feridas cirúrgicas não tratadas, em trabalhos que utilizaram metodologias de aplicação do laser semelhantes ao realizado no estudo com biópsias variando entre o 3º e 10º dia pós-operatório para a análise histopatológica (RODRIGUES, 2006) (VIEIRA, 2006) (MINATEL et al., 2006) (ROCHA JÚNIOR et al., 2007). Entretanto, foi relatado ausência de benefícios da terapia a laser de baixa potência em relação à proliferação vascular no tecido de granulação nas análises histopatológicas realizadas do 2º ao 10º dia de pós-operatório (ANNEROTH et al., 1988).

Vale lembrar que a associação da granulação com a terapia a laser de baixa potência até o presente momento foi realizada considerando-se apenas a análise não pareada dos resultados.

Ao se comparar a frequência da fibrose nos quatro grupos de ratos, tanto nas feridas à esquerda, tratadas com laser nos grupos 1, 2 e 3 e não tratadas no grupo controle, quanto nas feridas à direita, que não receberam nenhuma aplicação da terapia a laser em todos os grupos, viu-se que o índice de fibrose permaneceu idêntico para todas as feridas, independentemente do grupo a que pertencia o rato, posto que, não houve diferenças significativas estatisticamente entre eles. A metodologia utilizada para quantificar as características histopatológicas da fibrose parece não ter sido eficiente para a distinção dos graus da mesma nos quatro grupos.

O reparo tecidual induzido pelo laser de baixa potência em incisões cirúrgicas em ratos no 7º dia de pós-operatório demonstrou aumento dos depósitos de fibras colágenas nos reparos cicatriciais submetidos ao tratamento em comparação com o grupo controle (YASUKAWA et al., 2007) (MINATEL et al., 2006). Contudo não foi detectado aumento de fibras colágenas em ferimentos no dorso de ratos submetidos à terapia a laser de baixa potência entre o 3º e o 7º dias de pós-operatório quando comparados com animais não tratados (VIEIRA, 2006).

Já a comparação pareada da epitelização entre os ferimentos produzidos no mesmo animal, feridas tratadas com laser e não tratadas nos grupos 1, 2 e 3 e controle, não evidenciou qualquer diferença estatisticamente significativa entre a frequência de intensidade de epitelização apresentada pelos 4 grupos de animais ( $p = 0,761$ ). Esse resultado sugere, contrariamente a comparação não pareada, não haver qualquer relação entre a terapia a laser e a epitelização. O mesmo resultado se repete na comparação da granulação dos ferimentos quando se nota não haver diferença significativa entre as feridas tratadas e as não tratadas com laser ( $p = 0,762$ ). Portanto, a análise pareada contraria os resultados sugeridos pela análise não

pareada, trazendo a idéia de que não há relação entre a terapia a laser e a granulação, assim como visto na epitelização.

Houve dificuldade para a aquisição de estudos pareados que descrevem a influência da terapia a laser de baixa potência em estudos experimentais com animais por carência dos mesmos na literatura científica atual, principalmente avaliando características histopatológicas inerentes a cicatrização no 4º dia de pós-operatório aproximadamente. Entretanto, Damante (DAMANTE, 2003) ao realizar terapia a laser de baixa potência com dosagem de 4J/cm<sup>2</sup> em tecido gengival após gengivoplastia para tratamento em humanos, observou, a partir de análise pareada de biópsias incisivas do local no 7º dia de pós-operatório, que não houve diferença significativa quando analisadas, a epitelização e granulação dos fragmentos tratados a laser com os não tratados. Já Reddy (KESAVA REDDY, 2003), também em estudo pareado, investigou a influência do laser de baixa potência na cicatrização de feridas de ratos diabéticos e constatou que, após vinte e um dias de pós-operatório, houve um aumento significativo do número de fibras colágenas nas feridas tratadas quando essas eram comparadas com lesões não tratadas pertencentes ao mesmo animal.

Em resumo, os resultados discutidos mostram que os efeitos benéficos da terapia a laser no processo cicatricial não foram confirmados quando utilizado o adequado método de análise estatística para o experimento. A análise pareada é, no caso, a mais apropriada porque possibilita o controle de variações individuais nas características da cicatrização, levando em conta apenas os efeitos do tratamento a que os animais foram expostos, no caso a terapia a laser. A existência do grupo controle ainda permitiu uma comparação dos dois métodos de análise, demonstrando com maior fidelidade os resultados, não sendo necessária, portanto, a definição de número de aplicação ou existência de efeitos à distância. As discordâncias encontradas na literatura e a possível mitificação em relação aos efeitos benéficos da terapia a laser no processo cicatricial podem ser justificadas pela dificuldade de se encontrar estudos com comparação pareada. Estes devem ser mais estimulados para que as reais aplicações da terapia sejam elucidadas.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que, os resultados discutidos mostram que os efeitos benéficos da terapia a laser no processo cicatricial não foram confirmados quando utilizado o adequado método de análise estatística para o experimento.

## REFERÊNCIAS

- ALLENDORF, J. D. et al. Helium-neon laser irradiation at fluences of 1, 2, and 4 J/cm<sup>2</sup> failed to accelerate wound healing as assessed by both wound contracture rate and tensile strength. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 20, n. 3, p. 340–345, 1997.
- ANDERS, J. et al. FGF expression increases with low power laser irradiation during healing of cutaneous wounds in normal and diabetic psammomys obesus. **Lasers Surg Med**. 2002.
- ANNEROTH, G. et al. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 26, n. 1, p. 12–17, fev. 1988.
- BRAVERMAN, B. et al. Effect of helium-neon and infrared laser irradiation on wound healing in rabbits. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 9, n. 1, p. 50–58, 1989.
- CARRILLO, J. S. et al. A randomized double-blind clinical trial on the effectiveness of helium-neon laser in the prevention of pain, swelling and trismus after removal of impacted third molars. **International Dental Journal**, v. 40, n. 1, p. 31–36, fev. 1990.
- CHROMEY, P. A. The efficacy of carbon dioxide laser surgery for adjunct ulcer therapy. **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, v. 9, n. 3, p. 709–719, jul. 1992.
- DAMANTE, C. A. **Avaliação clínica e histológica dos efeitos do laser de baixa potência (GaAIs) na cicatrização de gengivoplastia em humanos**. Mestrado em Periodontia—Bauru: Universidade de São Paulo, 24 mar. 2003.
- FILHO, A. DE M. B.- et al. Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial. **Utilização do Laser de Baixa Intensidade no Processo de Cicatrização Tecidual. Revisão da Literatura.**, v. 46, n. N<sup>o</sup>1, p. 37–43, 2005.
- HOPKINS, J. T. et al. Low-Level Laser Therapy Facilitates Superficial Wound Healing in Humans: A Triple-Blind, Sham-Controlled Study. **Journal of Athletic Training**, v. 39, n. 3, p. 223–229, set. 2004.
- JUNIOR, A. et al. **Avaliação da força de ruptura das cicatrizes de anastomoses ileais, na presença de icterícia obstrutiva, em ratos**. TCC—[s.l.] FACULDADE DE MEDICINA DE BARBACENA, 23 out. 2008.
- KESAVA REDDY, G. Comparison of the photostimulatory effects of visible He-Ne and infrared Ga-As lasers on healing impaired diabetic rat wounds. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 33, n. 5, p. 344–351, dez. 2003.
- MINATEL, D. et al. ,Reparo tecidual induzido pelo laser de baixa intensidade em excisões cirúrgicas em ratos. **Rev Bras Fisioterap**. 2006.
- POSTEN, W. et al. Low-Level Laser Therapy for Wound Healing: Mechanism and Efficacy. **Dermatologic Surgery**, v. 31, n. 3, p. 334–340, 21 mar. 2006.
- PUGLIESE, L. S. et al. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 307–313, dez. 2003.

ROCHA, J. C. T. Terapia Laser, cicatrização tecidual e angiogenese. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, p. 44–48, 2004.

ROCHA JÚNIOR, A. M. et al. Effects of low-level laser therapy on the progress of wound healing in humans: the contribution of in vitro and in vivo experimental studies. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 6, n. 3, p. 257–265, set. 2007.

RODRIGUES, S. . Efeitos do laser de baixa potência, sob diferentes protocolos de administração, no reparo de feridas cutâneas em ratos. 2006.

SIMÕES, M. et al. Cicatrização de feridas: estudo comparativo em ratos hipertensos não tratados e tratados com inibidor da enzima conversora de angiotensina. *Rev Col Bras Cir.* n. 33, p. 74–8., 2006.

SUGRUE, M. E. et al. The Use of Infrared Laser Therapy in the Treatment of Venous Ulceration. **Annals of Vascular Surgery**, v. 4, n. 2, p. 179–181, mar. 1990.

TATARUNAS, A. C.; MATERA, J. M.; DAGLI, M. L. Z. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico: utilização do laser de baixa potência GaAs (904 nm). **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 13, n. 2, p. 86–93, abr. 1998.

TAVARES, M. R. **Efeito do laser terapêutico na cicatrização tendinosa: estudo experimental em ratos.** Mestrado em Bioengenharia—Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 30 jan. 2002.

VIEIRA, S. . **Efeito do laser de baixa potência na cicatrização da feridas cutâneas experimentais.** Dissertação—[s.l.] Universidade de Franca, 2006.

YASUKAWA, A. et al. The Effect of Low Reactive-Level Laser Therapy (LLLT) with Helium-Neon Laser on Operative Wound Healing in a Rat Model. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 69, n. 8, p. 799–806, 2007.

# CAPÍTULO 6

## VIABILIDADE DO ENXERTO DE OMENTO-MAIOR SOBRE O OSSO IN VIVO EM RATOS

**Sergio Ibañez Nunes**, Mestre em Cirurgia, Doutor em Medicina Professor da Faculdade de Medicina, UniFOA

**Thais Barros Corrêa Ibañez**, Mestre em Ensino em Ciências da Saúde, Instrutora de ACLS, Instituto Lóbus

**Marcelo Barros Weiss**, Mestre em terapia intensiva, Doutor em saúde pública, Professor da faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

**Marcos Guimarães de Souza Cunha**, Mestre e Doutor Professor da Faculdade de Medicina, UniFOA

**Mariana Silva Cunha**, Faculdade de Medicina, UniFOA

**Douglas Barros Corrêa**, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Suprema

### RESUMO

**Introdução:** Áreas expostas de osso são um problema em reconstruções, uma vez que o substrato para enxertia não existe, já que a vascularização à partir do osso, não ocorre. Em busca desta solução foi proposto fazer um enxerto não vascularizado de omento maior sobre osso exposto. **Método:** Foram utilizados 41 ratos Wistar divididos em três grupos. Grupo I operação simulada; Grupo II ressecção de área de 2x2 cm em calvária dos ratos, retirando toda pele e tecidos abaixo desta até a tábua óssea, incluindo periósteo, deixando o osso exposto, foi então enxertado fragmento de omento maior obtido através de laparotomia mediana, sem nenhuma anastomose, fixado por pontos à pele. Grupo III feita a mesma ressecção de tecido da calvária, da mesma forma que no Grupo II, porém sem enxertia, apenas curativo. Avaliados aspectos anatomopatológicos, macro e microscópicos. Todos os animais foram estudados em 15, 30 e 60 dias. **Resultado:** O grupo II apresentou presença de fibroblastos em 100% dos casos, crostas em 37,5%, vascularização aumentada em 75%, sem necrose, rejeição tecidual ou osteomielite. O Grupo III apresentou presença de fibroblastos em 93,75%, crosta em 56,3%, vascularização fisiológica em 18,7%, apresentou ainda osteomielite em 37,5% dos casos. **Discussão:** A neovascularização em retalhos de omento maior está bem documentada, porém não há relatos na literatura com enxertos não pediculados do omento. Neste estudo ficou evidente que a integração do omento maior, quando comparado ao grupo não enxertado, também mostrou a proteção contra osteomielite, com melhora das condições de cicatrização, assemelhando-se a outros estudos com uso de omento maior pediculado para cobrir áreas expostas. **Conclusão:** O uso de omento maior não pediculado se apresenta como técnica promissora para reconstrução, formando substrato para enxertia em áreas ósseas expostas.

**PALAVRAS CHAVE:** Omento; Transplante; Viabilidade

## INTRODUÇÃO

Frente a frequência de lesões traumáticas com exposição óssea, seja de membros ou de calvária, é justo inquerir-se se a cirurgia plástica está munida de técnicas suficientes para cobrir esta área exposta e se estas técnicas conseguem eficientemente alcançar seu objetivo.

Quando nos deparamos com lesões que acarretam exposição óssea em membros inferiores, temos como possíveis soluções o reparo com retalhos, zetaplastias e técnicas mais complexas como a de Filatov, Cross-Leg ou da aplicação de expansores de pele (TAVARES FILHO; CLÁUDIO-DA-SILVA; SOUZA, 2005)), que levam algumas semanas para expandir pele suficiente para a produção de retalhos. Estas técnicas, apesar de promoverem resolução destes problemas, não são solução simples para corrigir extensas lesões em calvária, por sua localização anatômica. É possível utilizar retalhos de nuca para corrigir lesões em região occipital, mas da calvária em toda sua extensão, a tarefa torna-se mais difícil e com mais intercorrências, devendo manter a extensão do retalho em 2:1, no máximo em 3:1 (DOS SANTOS, 2010).

Após tentativa frustrada de recobrimento destas lesões com outras técnicas, ou se a condição geral do paciente em questão, possivelmente um politraumatizado, não permitir intervenções que necessitem de longas horas em cirurgia ou anestesia geral, ou se a solução demandar muito tempo, como por exemplo com uso de expansores de pele, faz-se necessário alternativas mais rápidas de preenchimento destas lesões.

Os enxertos de pele são vascularizados primariamente pelo leito do ferimento e não de sua margem, isso implica na necessidade de se preparar o leito da área exposta, não sendo possível enxertar pele em sua espessura total sobre osso. (LINDENBLATT et al., 2008).

O retalho de omento, já utilizado de outras formas em estudos clínicos e experimentais, demonstra a capacidade do omento em estimular uma neovascularização, permitir uma formação de rede linfática e potencializar o processo cicatricial, mesmo na presença de infecção.

Para que haja integração de enxerto de pele sobre osso exposto, é necessário perfusão e viabilidade do segmento de pele transferido, o que depende obrigatoriamente da vascularização da região receptora, o omento pode agir como cobertura temporária, com o intuito de preparar o leito de um ferimento com exposição óssea para uma cobertura definitiva (LOFÊGO et al., 2006).

O leito do ferimento deve ser preparado previamente para receber o enxerto de pele e este preparo deve almejar o controle de uma possível infecção, reduzir o volume de exsudato e estimular formação de tecido de granulação (FERREIRA et al., 2009), evitando formação de granulação exuberante. De acordo com o estudo de (SALGADO et al., 2007) pode-se evitar infecção e alterar o tempo de cicatrização com a manipulação correta do tecido de granulação.

Como se vê, enxertos de pele, baseados em fragmentos com vascularização própria, constituem alternativas de difícil aplicação em calvária e estas soluções todas são boas, porém muito exigentes. Isso torna, necessária a busca por outras alternativas.

O enxerto autólogo, apediculado de omento sobre lesões em que há osso exposto, como em calvária, apresenta alguma probabilidade de ser rejeitado ou inviável? É justo afirmar que tecidos enxertados sem aporte vascular tendem à isquemia. Entretanto, em nenhum dos relatos consultados há evidências de que o enxerto autólogo apediculado de omento sobre osso exposto apresente alguma probabilidade de ser rejeitado ou inviável.

Com base em informações relacionadas à omentopexia em regiões isquêmicas, é lícito tomar como hipótese que esse tipo de enxertia possa ter alguma chance de sucesso e esperar que essa chance seja superior a pelo menos 50%.

A enxertia de omento apediculado em área óssea exposta, pode ser uma alternativa para os casos descritos acima, onde as técnicas tradicionais de cobertura para áreas expostas não podem ser utilizadas. O omento pode ser obtido videolaparoscopicamente ou por minilaparotomias, sob anestesia caudal. Pode-se aproveitar o tempo cirúrgico abdominal de um trauma que levou à esta laparotomia para extrair o omento e utilizá-lo na enxertia na lesão em questão. Esta é uma técnica de enxertia que pode estar disponível, que necessita de mais estudos para ser documentada e tornar-se técnica corriqueira.

No presente trabalho buscou-se determinar a viabilidade do enxerto de omento sem anastomose em osso exposto no tratamento de lesões que apresentam exposição óssea, mediante comparação de lesões de calvária de ratos tratados e não tratados com enxerto em condições experimentais.

## **MÉTODO**

O método de estudo aplicado neste trabalho foi o experimental, com ratos submetidos à enxertia com omento e grupos controles. Foram utilizados ratos Wistar, machos, de 12 a 16 semanas de idade, com peso superior a 250 gramas, albinos, hípidos, obtidos no Biotério da

Faculdade de Medicina de Barbacena e mantidos no setor de manutenção e experimentação do referido Biotério.

O experimento constou da montagem de três grupos de ratos para submeter a cada um deles à diferentes tratamentos com o objetivo de se comparar animais sujeitos à enxertia com os demais tratamentos. Grupo controle denominado Grupo I, com 9 ratos submetidos a laparotomia e manipulação do omento, Grupo II com 16 ratos laparotomizados, com produção de um ferimento de 2x2 cm na calvária que recebeu o enxerto omental e Grupo III com 16 ratos laparotomizados, com produção do mesmo ferimento descrito para os ratos do Grupo II que não recebeu o enxerto omental.

No Grupo I foi realizada laparotomia mediana e exclusivamente manuseio de tecido omental sem ressecção do omento para fins comparativos da estrutura macroscópica e microscópica do tecido. Nos três grupos foi realizada laparotomia mediana de 3cm de extensão. Nos grupos II e III foi realizada uma incisão na linha média do crânio entre a área nasofrontal e protuberância occipital externa de 20mm de extensão, a pele foi recortada de forma a formar um quadrado de 2x2 cm. A pele e tecidos subcutâneos, incluindo os músculos *temporalis* foram rebatidos lateralmente para exposição de toda a extensão da calvária, técnica utilizada por (COSTA et al., 2010). O periósteo foi também raspado em toda a extensão da calvária exposta nos dois grupos. No grupo II o omento foi fixado em 4 pontos do ferimento, sem anastomose alguma, utilizando uma gaze onde previamente foi colocada sobre sua superfície uma pasta de óxido de zinco e vaselina. A transfixação dos pontos, com fio cirúrgico mononylon 4-0 foi feita atravessando a pele, o omento e a gaze e no Grupo III apenas a pele e gaze preparada, uma adaptação do Curativo de Brown.

Nos Grupos I, II e III a laparotomia sempre foi feita após tricotomia e preparo antisséptico. Nos Grupos II e III a lesão da calvária sempre foi feita após tonsura da região posterior do crânio e preparo antisséptico. O tecido omental ficou imerso em solução de NaCl a 0,9% e 35°C durante a realização da síntese e produção da lesão da calvária.

Todos os tempos cirúrgicos foram feitos com os animais sob anestesia intraperitoneal, o anestésico utilizado foi o Cloridrato de Cetamina 50mg/ml na dose de 0,3 ml. O plano anestésico desejado foi atingido em cinco minutos com pequenas variações.

Nos 15º, 30º e 60º dias pós-operatórios os animais foram sacrificados para exame macroscópico e microscópico do enxerto. Todos os animais sacrificados receberam doses letais de Cetamina. No 15º dia cinco animais de cada grupo foram sacrificados. No 30º dia mais 5

animais de cada grupo foram sacrificados, e por fim no 60º dia pós operatório 6 animais de cada grupo foram sacrificados para verificação da patologia. A cabeça dos animais foi retirada *post mortem* e estas peças foram preservadas em frascos contendo solução de formol à 10%.

As peças cirúrgicas foram enviados à análise patológica para análise macroscópica e fragmentos em corte coronal foram clivados e corados com Hematoxilina e Eosina para a análise microscópica, foi utilizado um diário de laboratório dos autores para preenchimento que contemplavam as seguintes variáveis: Tecido de granulação na macroscopia, presença de hemorragia na macroscopia, presença de necrose na macroscopia, presença de pus na macroscopia, presença de fibroblastos na microscopia, presença de crosta na microscopia, característica da vascularização local na microscopia, presença de vasos trombosados na microscopia, presença de hemorragia na microscopia, presença de necrose na microscopia, presença de rejeição tecidual na microscopia e presença de osteomielite na microscopia.

O presente estudo foi realizado com obediência as normas éticas de experimentação científica e aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da UNIPAC sob protocolo número 637/2010.

A análise dos dados foi feita em microcomputador com recurso de processamento estatístico do “software” Stata 9.2. As variáveis do estudo são as registradas nos diários acima mencionados. Foram construídas as distribuições de frequência e calculadas as médias, os desvios padrões e os percentuais indicados para cada variável. A aferição dos efeitos da enxertia com o omento foi realizada mediante comparação dos animais do grupo II com os do grupo III. Reservando-se a experiência dos animais do Grupo I, exclusivamente para a verificação das condições do omento não retirado da cavidade abdominal do animal. As comparações dos dois grupos foram realizadas em tabelas de frequências tipo RxC ou em tabelas de ANOVA. O significado estatístico das diferenças observadas entre os grupos comparados foi aferido pelo teste exato de Fisher, na comparação de percentagens, ou pelo teste de Student, ou Fisher, na comparação de médias. O nível de significância estatística adotado na análise foi de 5%.

## RESULTADOS

Foram operados ao todo 41 ratos machos da raça Wistar, sendo divididos em três grupos. Grupo I controle de 9 ratos (21,95%), grupo II que recebeu enxerto em calota craniana de 16 ratos (39,02%) e grupo III que não recebeu enxerto em calota craniana de 16 ratos (39,02%).

A média do peso pré-operatório dos ratos foi de 322 gramas (Desvio padrão - DP =51,95) e a mediana de 350,5 gramas. O rato mais leve pesava 300 gramas e o rato mais pesado

pesava 460 gramas. A comparação dos três grupos quanto ao peso pré-operatório mostrou que 9 (100,0%) dos animais do grupo controle, 7 (43,8%) do grupo II e 4 (25,0%) do grupo III possuíam menos de 321 gramas de peso e pesos médios iguais a 308,3 grs. (DP =6,5) 355,9 grs. (DP =56,8) e 369,0 grs. (DP =49,9), respectivamente. O teste de Kruskal-Wallis utilizado na aferição dos significados estatísticos das médias apresentou  $H = 8,66$  e  $P = 0,013$ .

Em relação ao peso pré-eutanásia dos ratos, a média do peso foi de 345 gramas (DP =45,99) e a mediana de 357,48 gramas. O rato mais leve pesava 266 gramas e o rato mais pesado pesava 460 gramas. A comparação dos três grupos quanto ao peso pré-eutanásia mostrou que 6 (66,7%) dos animais do grupo controle, 3 (18,8%) do grupo II e 2 (12,5%) do grupo III possuíam menos de 321 gramas de peso e pesos médios iguais a 320 grs. (DP =10,8), 362,6 grs. (DP =51,3) e 373,4 grs. (DP =42,6), respectivamente. O teste de Kruskal-Wallis utilizado na aferição dos significados estatísticos das médias apresentou  $H = 8,67$  e  $P = 0,0073$ .

A média do tempo total de cirurgia foi de 36,38 minutos (DP =17,43) e a mediana de 34 minutos. O menor tempo foi de 10 minutos e o maior tempo foi de 71 minutos, a média do tempo cirúrgico de enxertia foi de 23,28 minutos (DP =8,07) e a mediana de 20,5 minutos. O menor tempo foi de 11 minutos e maior tempo foi de 42 minutos. O tempo cirúrgico de enxertia do grupo III é equivalente ao tempo de produção do ferimento em calota craniana. O tempo de enxertia do grupo I não foi calculado uma vez que este grupo é o controle.

O exame anatomopatológico do omento dos ratos do grupo controle mostrou apenas presença de tecido adiposo ricamente vascularizado. No exame dessas peças não se detectou nenhuma outra alteração.

Notou-se durante a análise macroscópica que a intensidade da expressão do tecido de granulação nos animais do grupo III de 15 dias de pós-cirurgia foi menor que a intensidade de expressão do tecido de granulação nos animais do grupo II de 15 dias pós-cirurgia e, durante a análise microscópica foi identificado um granuloma em um rato pertencente ao grupo III de 30 dias pós-cirurgia.

As demais características dos animais são apresentadas nas tabelas a seguir.

A tabela 1 apresenta as frequências das características macroscópicas e microscópicas dos enxertos observadas entre os animais examinados independentemente do período pós-cirúrgico, seja no 15º, 30º ou 60º dia. Apresenta também os resultados do teste de  $\chi^2$  e os testes exatos de Fisher aplicados na verificação do grau de significância estatística das diferenças observadas entre as frequências e os respectivos valores de P.

Tabela 1 – Frequência de características macroscópicas e microscópicas do enxerto observadas entre os animais examinados independentemente do período pós-cirúrgico.

CARACTERÍSTICA COMPARADA DOS GRUPOS	GRUPO II		GRUPO III		X2/F	P
	N	%	N	%		
<b>Tecido de Granulação na Macroscopia</b>						
Presente	4	25,0	5	31,3	-	1,000
Ausente	12	75,0	11	68,7		
<b>Presença de Hemorragia na Macroscopia</b>						
Presente	16	100	16	100	-	-
Ausente	0	0,0	0	0,0		
<b>Presença de Necrose na Macroscopia</b>						
Presente	0	0,0	0	0,0	-	-
Ausente	16	100,0	16	100,0		
<b>Presença de Pus na Macroscopia</b>						
Presente	0	0,0	0	0,0	-	-
Ausente	16	100,0	16	100,0		
<b>Presença de Fibroblastos na Microscopia</b>						
Presente	16	100,0	15	93,75	-	1,000
Ausente	0	0,0	1	6,25		
<b>Presença de Crosta na Microscopia</b>						
Presente	6	37,5	9	56,3	1,1294	0,288
Ausente	10	62,5	7	43,7		
<b>Característica da Vascularização Local na Microscopia</b>						
Aumentada	12	75,0	13	81,3	-	1,000
Diminuída	0	0,0	0	0,0		
Fisiológica	4	25,5	3	18,7		
<b>Presença de Vasos Trombosados na Microscopia</b>						
Presente	0	0,0	0	0,0	-	-
Ausente	16	100,0	16	100,0		
<b>Presença de Hemorragia na Microscopia</b>						
Presente	2	12,5	4	25,0	-	0,654
Ausente	14	87,5	12	75,0		
<b>Presença de Necrose na Microscopia</b>						
Presente	0	0,0	0	0,0	-	-
Ausente	16	100,0	16	100,0		
<b>Presença de Rejeição Tecidual na Microscopia</b>						
Presente	0	0,0	0	0,0	-	-
Ausente	16	100,0	16	100,0		
<b>Presença de Osteomielite na Microscopia</b>						

Presente	0	0,0	6	37,5	-	0,018
Ausente	16	100,0	10	62,5		

( - ) Teste exato de Fisher. Fonte: os autores (2011)

A tabela 2 apresenta as frequências das características microscópicas dos enxertos relativos a presença ou ausência de crosta ou osteomielite observadas nos grupos II e III nos 15°, 30° e 60° dia pós-cirurgia. Apresenta também os resultados do teste de  $\chi^2$  e os testes exatos de Fisher aplicados na verificação do grau de relevância estatística das diferenças observadas entre as frequências e os respectivos valores de P.

Tabela 2 – Frequência das características microscópicas dos enxertos relativos à presença ou ausência de crosta ou osteomielite observadas nos grupos II e III nos 15°, 30° e 60° dia pós-cirurgia.

CARACTERÍSTICA COMPARADA DOS GRUPOS	GRUPO II		GRUPO III		X <sup>2</sup> /F	P
	N	%	N	%		
<b>Presença de Crosta na Microscopia dos Grupos de 15 dias</b>						
Presente	5	100,0	4	80,0	-	1,000
Ausente	0	0,0	1	20,0		
<b>Presença de Crosta na Microscopia dos Grupos de 30 dias</b>						
Presente	0	0,0	5	100,0	-	0,008
Ausente	5	100,0	0	0,0		
<b>Presença de Crosta na Microscopia dos Grupos de 60 dias</b>						
Presente	1	16,7	0	0,0	-	1,000
Ausente	5	83,3	6	100,0		
<b>Presença de Osteomielite na Microscopia dos Grupos de 15 dias</b>						
Presente	0	0,0	4	80,0	-	0,048
Ausente	5	100,0	1	20,0		
<b>Presença de Osteomielite na Microscopia dos Grupos de 30 dias</b>						
Presente	0	0,0	2	40,0	-	0,444
Ausente	5	100,0	3	60,0		
<b>Presença de Osteomielite na Microscopia dos Grupos de 60 dias</b>						
Presente	0	0,0	0	0,0	-	-
Ausente	6	100,0	6	100,0		

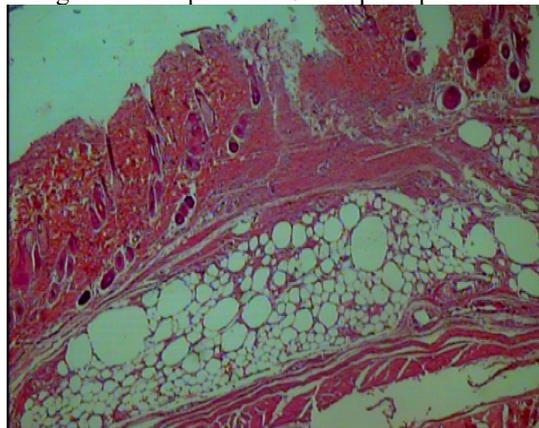
( - ) Teste exato de Fisher. Fonte: os autores (2011)

Os grupos foram comparados também segundo as frequências das demais variáveis do estudo observadas nos dias de observação mencionados. Em nenhuma dessas comparações se obteve valores de P inferiores a 0,05 nos testes de significância aplicados em tais comparações.

Vale à pena destacar que os dois grupos não apresentaram hemorragia, necrose ou pus na macroscopia e também não apresentaram vasos trombosados, necrose e rejeição tecidual na análise microscópica.

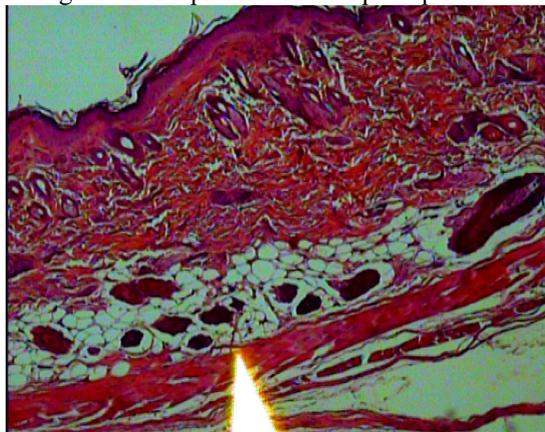
As figuras 1,2,3 ilustram os exemplos de achados microscópicos nas áreas tratadas com e sem o enxerto de omento, aos 15, 30 ou 60 dias pós-operatório.

Figura 1 - Grupo II ao 15º dia pós-operatório.



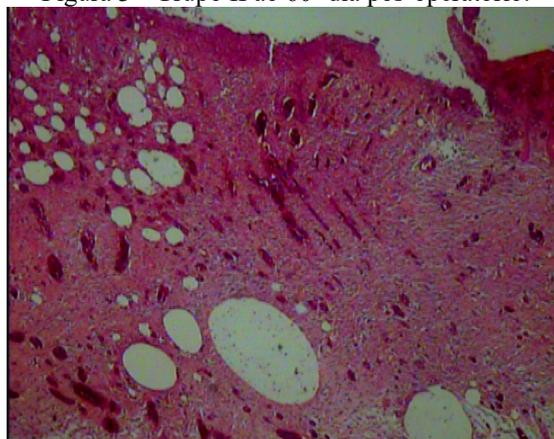
Fonte: Os autores

Figura 2 - Grupo II ao 30º dia pós-operatório.



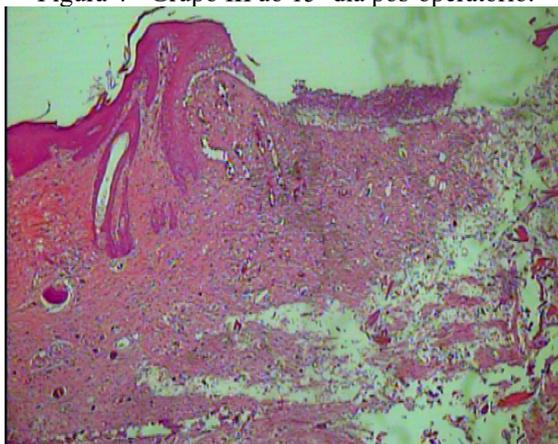
Fonte: Os autores

Figura 3 - Grupo II ao 60º dia pós-operatório.



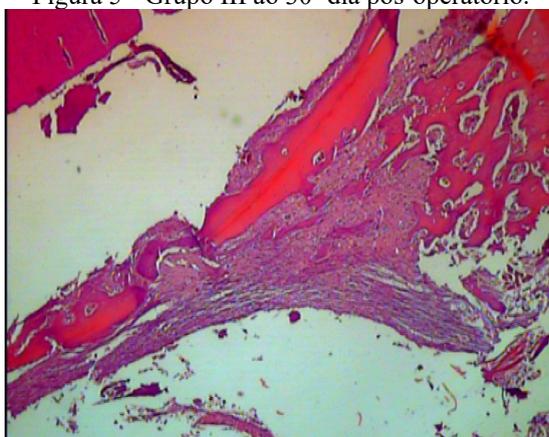
Fonte: Os autores

Figura 4 - Grupo III ao 15º dia pós-operatório.



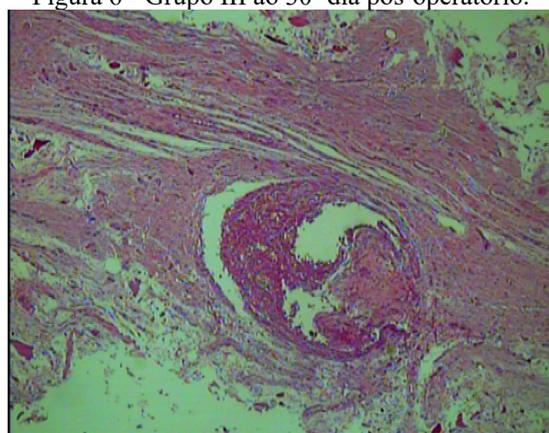
Fonte: Os autores

Figura 5 - Grupo III ao 30º dia pós-operatório.



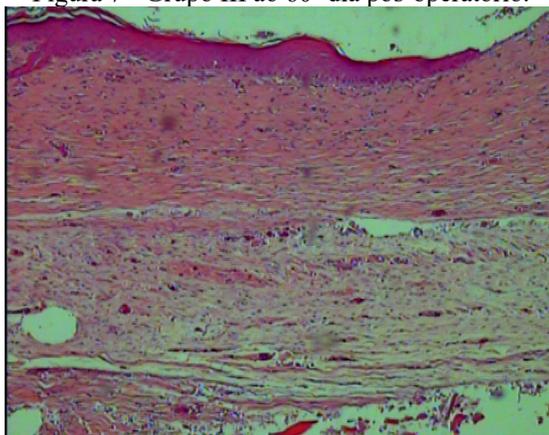
Fonte: Os autores

Figura 6 - Grupo III ao 30º dia pós-operatório.



Fonte: Os autores

Figura 7 - Grupo III ao 60º dia pós-operatório.



Fonte: Os autores

## DISCUSSÃO

Estudos experimentais e relatos de caso, que utilizaram omento como substrato para retalho ou enxertia em fígado, coração, extremidades, fraturas ósseas, periósteo de calvária, anastomoses colônicas, baço e reconstrução total de orelha, utilizaram ratos, cães e humanos como receptores autógenos da enxertia (NAKAZATO et al., 2011a) (SILVA et al., 2006) (PARK; SUK ROH; SANG CHI, 2003) (ROA et al., 1999) (FERRIGNO et al., 2010) (GRECA et al., 1998) (ADAMS; CTERCTEKO; BILOUS, 1992). Em nenhum dos estudos ou relato foi utilizada a técnica de enxertia livre e sem anastomose do omento, objeto da presente narrativa.

Neste trabalho, 41 ratos machos da raça Wistar foram operados e foram divididos em três grupos com objetivo de determinar algumas características de pega ou não pega do enxerto de calota craniana com omento e a viabilidade de usar este tipo de enxerto em áreas com pouca vascularização ou isquemia. Aqui foram utilizados 16 ratos nos outros grupos e 9 ratos no grupo controle. A amostra foi projetada inicialmente para comparação de grandezas quantitativas em termos de médias ou medianas, posto que se pensava fazer análise quantitativa dos achados microscópicos previstos no projeto. Estas medidas não foram realizadas, entretanto, pelo contrário, por razões de ordem prática optou-se, neste particular, pela determinação apenas de presença ou não de elementos que podiam descrever os padrões das reações de rejeição ou dos elementos que acusavam a pega do enxerto. O desvio do foco da análise pode, por causa disto, ter comprometido a capacidade da amostra em demonstrar o que se buscou no trabalho. Além disso não é possível realizar este tipo de experimento com quantidades maiores de animais por razões éticas. Mas os resultados apresentados abaixo indicam que ela foi suficiente para a verificação dos objetivos propostos no projeto. Grupo I controle de 9 ratos, Grupo II que recebeu enxerto em calota craniana de 16 ratos e Grupo III que não recebeu enxerto em calota craniana de 16 ratos.

O peso médio pré-operatório dos animais foi de pouco mais de 320 gramas, sendo que os pesos médios dos animais foram diferentes entre si ( $P = 0,013$ ).

A mesma coisa foi observada no estudo do peso pré-eutanásia dos animais, embora o peso médio dos animais tenha sido um pouco maior em todos os grupos. Na comparação dos pesos dos animais pré-eutanásia os testes de significância também mostram diferença estatisticamente importante entre os três grupos ( $P = 0,0073$ ).

Os resultados indicam que os três grupos experimentais são diferentes pelo menos quanto ao peso e que quase todos os animais ganharam peso no curso do experimento.

Embora a diferença de peso nos três grupos possa representar viés no desenho do experimento, gerado possivelmente pela disponibilidade de animais de diferentes idades à medida que os grupos foram montados, não há evidência na literatura consultada, de que diferenças de peso possam afetar o desfecho da enxertia ou da não enxertia.

Foi realizado exame anatomopatológico do omento dos animais do grupo I, e o resultado obtido deste exame mostra que após manipulação cirúrgica o omento não altera suas características fisiológicas. Foi observado que, ao enxertar o omento após manipulação cirúrgica, este está viável e com características preservadas.

Durante análise macroscópica foi evidente que, nos animais abatidos aos 15 dias pós-operatórios, os animais do grupo II exibiam tecido de granulação menos expressivo que os animais do grupo III, isto sugere que o omento pode apresentar um efeito regulador sobre a reação inflamatória nas feridas produzidas na calvária destes animais, evitando assim, granulação exuberante. Foi encontrado, microscopicamente, um granuloma em um dos animais do grupo III de 30 dias pós-operatórios. Este granuloma pode estar associado à resposta contra corpo estranho, no caso fio cirúrgico ou gaze e a uma granulação exuberante com formação de granulomas.

A comparação dos grupos II e III segundo a presença ou ausência de osteomielite na microscopia mostra que ela estava ausente em 100% dos ratos do grupo II e presente em aproximadamente 37% dos ratos do grupo III. A diferença entre os dois grupos foi significativa estatisticamente ( $P = 0,018$ ) e indica que os animais tratados com a técnica do omento possuem menor probabilidade de desenvolver osteomielite que os não tratados. Sugere também que o omento exerce atividade protetora contra essa afecção.

Estes resultados são compatíveis com a descrição de (DOURADO, 2005), que cita em sua revisão de literatura que o omento é um tecido que, por ser rico em tecido linfático, diminui

a chance do surgimento de infecção em enxertos. Zhang e outros (ZHANG et al., 1997) afirmam em seu estudo que o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é o maior fator angiogênico no omento, e que quando exposto a uma situação de hipóxia, ocorre uma regulação à nível transcricional que gera maior expressão do VEGF, uma vez que este é uma proteína reguladora, portanto: quando o omento é enxertado em área com baixa oferta de nutrientes e/ou oxigênio, o VEGF presente no omento sofre um aumento em sua expressão, induzindo à neovascularização arteriovenosa e linfática. (FERRARA; GERBER; LECOUTER, 2003)

A angiogênese é crítica para a inflamação crônica, aguda e fibrose e para a revascularização de tecidos isquêmicos (FERRARA; GERBER; LECOUTER, 2003). O mecanismo da neovascularização mediada por VEGF presente no omento é explicada por (EPSTEIN, 2001), (CONWAY, 2001) e (FERRARA; GERBER; LECOUTER, 2003), em seus estudos. O VEGF exerce efeito sobre células derivadas de medula óssea, que induzem formações colônicas em células progenitoras de granulócitos-macrófagos maduras e promove quimiotaxia em monócitos (CLAUSS et al., 1990), (BROXMEYER, 1995), este é outro mecanismo de combate à infecções, mediado pelo VEGF presente no omento, que sugere o porque de os ratos do grupo II não terem apresentado osteomielite, enquanto alguns ratos do grupo III apresentaram.

O enxerto com omento pediculado e apediculado é uma técnica cirúrgica que vem sendo utilizada para perfundir áreas isquêmicas e para preparo de um leito para enxerto de pele na prática clínica e em pesquisas (Fontes).

O trabalho de Nazakato e outros (2011), mostrou que a injeção da fração lipídica omental é um indutor de vasodilatação e neovascularização, assim como no estudo de Cartier (CARTIER et al., 1990) onde foi injetado a fração lipídica do omento na córnea de coelhos, em resumo, a capacidade angiogênica precoce do omento já foi confirmada por estudos experimentais. No trabalho de Nazakato e outros (NAKAZATO et al., 2011b) é exibida a capacidade do retalho de omento suprir a vascularização do perióstio da calvária exposta de ratos, que em comparação ao músculo, tem ação superior.

Os dois grupos também foram comparados quanto às frequências da presença ou ausência macroscópica de tecido de granulação, hemorragia, necrose e pus, bem como a presença ou ausência ou quanto ao aumento, diminuição e característica fisiológica microscópica de fibroblastos, crosta, vasos trombosados, hemorragia, rejeição tecidual e vascularização local. Em todas estas comparações não foi possível demonstrar diferenças

estatisticamente importantes entre os percentuais comparados. Todas as comparações apresentaram  $P > 0,05$ . No ponto de vista estatístico não se pode afirmar que a presença ou não do enxerto esteja associada a qualquer das variáveis mencionadas. No entanto, o aspecto clínico dos ferimentos dos animais e a maior frequência de ausência de tecido de granulação, de crosta, de hemorragias do grupo enxertado, bem como a maior frequência de vascularização fisiológica nesse mesmo grupo apontam para uma melhor resposta cicatricial ao enxerto do que o ferimento que não recebe o enxerto, apesar de não ser possível demonstrar diferenças estatisticamente importantes. Como a pequena quantidade de animais é uma explicação plausível para o fato observado, é lícito admitir-se que de fato, o enxerto de omento esteja associado a uma melhor cicatrização.

É digno de nota nos resultados apresentados, que tanto os animais do Grupo II e Grupo III, apresentaram 100% de ausência de necrose na macroscopia, pus na macroscopia, vasos trombosados na microscopia, necrose na microscopia e 100% dos animais do Grupo II e Grupo III apresentavam hemorragia na macroscopia. Nenhum animal apresentou rejeição ao enxerto, a pega foi de 100%. Praticamente todos os animais apresentaram fibroblastos na microscopia, com exceção de um animal do grupo III.

A comparação dos Grupos II e Grupos III nos 15º, 30º e 60º dias do pós operatório, segundo a presença ou ausência microscópica de crosta mostra que havia ausência de crosta em 100% dos ratos do grupo II aos 30 dias pós operatórios e presente em 100% dos ratos do grupo III na mesma data. A diferença entre os dois grupos foi significativa estatisticamente ( $P = 0,008$ ) e indica que os animais que receberam o enxerto de omento possuem menor probabilidade de apresentar, microscopicamente, crosta no 30º dia do pós operatório. Sugere também que o desaparecimento da crosta é mais rápido no grupo II do que no grupo III. Ao comparar os Grupos II e III no 15º e 60º dia, segundo a presença ou ausência microscópica de crosta, não se demonstrou diferenças estatisticamente importantes entre os percentuais comparados. Essas comparações apresentaram  $P > 0,05$ . Os resultados nas comparações mostram que a crosta está presente em todos os animais até o 15º dia e que desaparecem quase completamente ao 60º dia, independente do grupo terem sido enxertados ou não.

A subsequente enxertia de pele em espessura total de ferimentos com exposição óssea deve ser realizada entre o 15º e 30º dia, uma vez que neste período, observa-se uma tendência a não se encontrar crosta sobre o leito preparado do ferimento. Devido a forma de condução do estudo, fica impossível determinar em que dia o ferimento já não apresenta mais crostas, para tal, seria necessário seriar as análises microscópicas entre o período de 15 e 30 dias pós-

operatórios. A ausência de crosta é indispensável para uma boa cicatrização, recuperação de tecidos e promoção de um leito para a enxertia de pele, já que a presença da crosta impede a fase de embebição plasmática necessária à integração do enxerto (SALGADO et al., 2007) (LOFÊGO et al., 2006).

A comparação do Grupo II e Grupo III no 15º, 30º e 60º dia pós-operatório, segundo a presença ou ausência de osteomielite mostra que a osteomielite permaneceu ausente nos animais do Grupo II em todos os momentos da análise e que estava presente na quase totalidade dos animais do Grupo III no 15º dia em 40% deles no 30º dia e ausente na totalidade deste grupo no 60º dia. A diferença entre os dois grupos nesse aspecto é significativa ( $P = 0,048$ ) e reforça, em primeiro lugar a constatação feita anteriormente de que o enxerto pode prevenir a osteomielite e em segundo lugar que, de alguma forma ela foi controlada nos animais em até 60 dias, como ocorre com os animais do Grupo III.

A figura 1, 2 e 3 apresentam graficamente cortes histológicos obtidos de diferentes ratos pertencentes ao grupo II aos 15, 30 e 60 dias pós-cirúrgicos respectivamente. Observa-se na primeira figura que o omento, tecido adiposo ricamente vascularizado, está íntegro após 15 dias de enxertia e apresenta intensa vascularização e logo acima é possível identificar um processo de fibrose com intensa reação inflamatória, não há sinais de osteólise, típicos de osteomielite. Aos 30 dias, observa-se reação inflamatória com fibrose, menos intensa que aos 15 dias, o omento continua presente com intensa vascularização, sugerindo que desenvolveu anastomoses próprias, pelos mecanismos descritos anteriormente. Aos 60 dias é possível observar remanescências do tecido enxertado com fibrose, sem sinais inflamatórios agudos e inclusive algum grau de reepitelização, não são encontrados sinais de rejeição ao enxerto.

A figura 4 apresenta corte histológico obtido de um animal pertencente ao grupo III aos 15 dias pós-operatórios e é possível observar fibrose mais intensa do que apresentada na figura 1, com reação inflamatória intensa, neste corte não foi possível demonstrar presença de osteomielite.

A figura 5 e 6 são cortes histológicos de diferentes animais pertencentes ao grupo III aos 30 dias pós-operatórios, é possível identificar, respectivamente, osteomielite com intensa osteólise e um granuloma, as causas destes possíveis desfechos foram apresentadas anteriormente e só foram observadas nos animais do grupo III. A figura 7 é um corte histológico de um animal pertencente ao grupo III aos 60 dias pós-operatórios e mostra área com fibrose extensa, superior à apresentada na figura 3.

Os resultados mostrados permitem concluir que a técnica de enxertia sem anastomose parece constituir-se em alternativa válida para cobertura de ferimentos com perda de substância e exposição óssea, se se puder aplicar os resultados do experimento com ratos em outros modelos de mamíferos, inclusive o homem. Afinal, a percentagem de rejeição no presente trabalho foi igual a zero. Ajuda na cicatrização e parece atuar como fator protetor contra infecções comuns a ferimentos com ossos expostos. Parece também reduzir a possibilidade do desenvolvimento de crosta e de granulação exuberante, fatores indesejados quando se planeja enxerto de pele. O preparo do leito ósseo exposto para uma futura enxertia de pele pode ser alcançado com a técnica de enxertia prévia do omento.

## CONCLUSÃO

O uso de omento maior não pediculado se apresenta como técnica promissora para reconstrução, formando substrato para enxertia em áreas ósseas expostas.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, W.; CTERCTEKO, G.; BILOUS, M. Effect of an omental wrap on the healing and vascularity of compromised intestinal anastomoses. **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 35, n. 8, p. 731–738, ago. 1992.

BROXMEYER. [No title found]. **International Journal of Hematology**, v. 62, p. 203, 1995.

CARTIER, R. et al. Angiogenic factor: a possible mechanism for neovascularization produced by omental pedicles. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 99, n. 2, p. 264–268, fev. 1990.

CLAUSS, M. et al. Vascular permeability factor: a tumor-derived polypeptide that induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration. **Journal of Experimental Medicine**, v. 172, n. 6, p. 1535–1545, 1 dez. 1990.

CONWAY, E. Molecular mechanisms of blood vessel growth. **Cardiovascular Research**, v. 49, n. 3, p. 507–521, 16 fev. 2001.

COSTA, A. DE M. et al. An experimental model for the study of craniofacial deformities. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 264–268, jun. 2010.

DOS SANTOS, L. F. Retalho de nuca para reconstrução de lesões de couro cabeludo. **Cir. plást. iberolatinoam**, v. v. 36, n. 3, p. 263–272, set. 2010.

DOURADO, D. **Aplicabilidades cirúrgicas do omento em pequenos animais**. Monografia apresentada ao curso de graduação em Medicina Veterinária—Bahia: Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, 2005.

EPSTEIN, S. Therapeutic interventions for enhancing collateral development by administration of growth factors: basic principles, early results and potential hazards. **Cardiovascular Research**, v. 49, n. 3, p. 532–542, 16 fev. 2001.

FERRARA, N.; GERBER, H.-P.; LECOUTER, J. The biology of VEGF and its receptors. **Nature Medicine**, v. 9, n. 6, p. 669–676, jun. 2003.

FERREIRA, M. C. et al. Negative pressure therapy (vacuum) for wound bed preparation among diabetic patients: case series. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 127, n. 3, p. 166–170, 2009.

FERRIGNO, C. R. A. et al. Retalho de omento maior para indução de vascularização e consolidação óssea em cão. **Ciência Rural**, v. 40, n. 9, p. 2033–2036, set. 2010.

GRECA, F. H. et al. AÇÃO DO OMENTO NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 13, n. 3, p. 172–176, jul. 1998.

LINDENBLATT, N. et al. A New Model for Studying the Revascularization of Skin Grafts In Vivo: The Role of Angiogenesis: **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 122, n. 6, p. 1669–1680, dez. 2008.

LOFÊGO, J. et al. Enxertia de pele em oncologia cutânea. **An Bras Dermatol**, p. 465– 72., 2006.

NAKAZATO, K. et al. Free Calvarial Periosteum Graft Vascularized by an Omental Flap in a Rat Model: **Annals of Plastic Surgery**, v. 67, n. 6, p. 649–654, dez. 2011a.

NAKAZATO, K. et al. Free Calvarial Periosteum Graft Vascularized by an Omental Flap in a Rat Model: **Annals of Plastic Surgery**, v. 67, n. 6, p. 649–654, dez. 2011b.

PARK, C.; SUK ROH, T.; SANG CHI, H. Total Ear Reconstruction in the Devascularized Temporoparietal Region: II. Use of the Omental Free Flap: **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 111, n. 4, p. 1391–1397, abr. 2003.

ROA, D. M. et al. Microvascular Transplantation of a Free Omental Graft to the Distal Extremity in Dogs. **Veterinary Surgery**, v. 28, n. 6, p. 456–465, nov. 1999.

SALGADO, M. I. et al. Cicatrização conduzida e enxerto de pele parcial no tratamento de feridas. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 53, n. 1, p. 80–84, fev. 2007.

SILVA, P. C. et al. Development of blood vessels of the greater omentum in the hepatic lobe after vascular ligation: an experimental model in the rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 21, n. 6, p. 416–421, dez. 2006.

TAVARES FILHO, J. M.; CLÁUDIO-DA-SILVA, C. S.; SOUZA, F. Z. DE. Uso de expansores de tecidos nos membros inferiores. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 32, n. 6, p. 290–296, dez. 2005.

ZHANG, Q.-X. et al. Vascular Endothelial Growth Factor Is the Major Angiogenic Factor in Omentum: Mechanism of the Omentum-Mediated Angiogenesis. **Journal of Surgical Research**, v. 67, n. 2, p. 147–154, fev. 1997.

# CAPÍTULO 7

## ESTUDOS *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS, FARMACODINÂMICAS, DE TOXICIDADE DE DERIVADOS PIRAZOL ORGANOCALCOGÊNIOS (Se, S)

DOI: 10.47402/ed.ep.c202172121523

**Ianka Jacondino Nunes**, Graduanda de Bacharelado em Química Forense, UFPEL  
**Danielle Tapia Bueno**, Graduanda de Bacharelado em Química Forense, UFPEL  
**Wesley Vieira Ferreira**, Doutorando em Química, Aluno do Programa de Pós-Graduação em Química, UFPEL  
**Adriana Castro Pinheiro**, Doutora em Química, Professora do Programa de Pós-Graduação em Química, UFPEL

### RESUMO

O desenvolvimento de um novo fármaco é um processo complexo e as metodologias modernas de estudos *in silico* são ferramentas importantes integradas ao processo de planejamento na estimativa precoce dos parâmetros farmacocinéticos, farmacodinâmicos e toxicológicos conhecidos como ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade). Os estudos *in silico* consistem num método alternativo de identificação e seleção de novas drogas candidatas a fármacos traçando um melhor perfil farmacológico, que reduz a falha relacionada a farmacocinética na fase clínica. Neste trabalho, apresentamos estudos *in silico* avaliando as propriedades farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas de compostos derivados do 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazol [(3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol) (**1a**), (3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsulfanil)-1*H*-pirazol) (**1b**) e (3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol) (**1c**)], com o auxílio de quatro softwares: Osiris Property Explorer, SwissADME, Molinspiration e Pass online. Os resultados da análise *in silico* destes compostos foram comparados com dados experimentais previamente reportados na literatura. A análise *in silico* empregando o software Osiris Property Explorer indicou que os compostos analisados não apresentam toxicidade aparente. Para os resultados encontrados no software SwissADME, foi observado que o composto **1a** apresentou as melhores propriedades ADME. Através do software Molinspiration foi observado que os compostos (**1a** – **1c**) possuem boa previsão de biodisponibilidade se ingeridos pela via oral. A análise dos resultados obtidos empregando o software Pass Online, indica que entre os compostos analisados, **1a** e **1c** apresentam melhor potencial antioxidante e antineoplásico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Química medicinal, *in silico*, ADMET, organocalcogênios, pirazol.

### INTRODUÇÃO

A descoberta de novos fármacos é um processo de grande complexidade, demorado e que pode ser dividido em várias fases, como a genômica relacionada a doenças, identificação e validação de alvos, estudos pré-clínicos e ensaios clínicos (WU, et al., 2020). Nesse processo

de desenvolvimento de novos fármacos a farmacocinética e a toxicidade geralmente são avaliadas em um estágio considerado tardio (CUNHA et al., 2016). Assim, em torno de 50%

dos candidatos a fármacos falham nos ensaios clínicos iniciais, devido a eficácia e segurança indesejáveis causadas principalmente pelas propriedades farmacocinéticas e toxicológicas (ADMET) (CUNHA et al., 2016; WU et al., 2020).

Bons candidatos a fármacos devem ser facilmente absorvidos, distribuídos, metabolizados e eliminados da corrente sanguínea sem causar quaisquer efeitos tóxicos. Essas propriedades são conhecidas como ADMET (administração, metabolismo, excreção e toxicidade) (FATHIMA et al., 2020; MALIEHE et al., 2020). A avaliação das propriedades ADMET pode fornecer uma previsão de biodisponibilidade oral, permeação celular, metabolismo e eliminação (características farmacocinéticas), eficácia e toxicidade (características farmacodinâmicas) das moléculas (MCHICHI et al., 2021).

Os métodos de predição das propriedades ADMET vem sendo feitos através de modelos *in vitro* e *in vivo*, porém estes são impraticáveis de serem realizados com um grande número de compostos (MCHICHI et al., 2021). Desse modo, a tecnologia tem sido uma aliada na previsão das propriedades ADMET de novos candidatos a fármacos de maneira rápida, abrangente, de alto rendimento e baixo custo (FERREIRA et al., 2019). A avaliação em fase inicial dessas propriedades permite limitar a experimentação animal, de modo a eliminar dos estudos *in vivo*, os compostos que não obtiverem bons resultados nos parâmetros *in silico* (HEGDEN et al., 2021).

Contudo, os estudos *in silico* não são suficientes sozinhos, esses apenas fornecem informações de compostos semelhantes a fármacos dentro de uma biblioteca preexistente, e nesse sentido, oferecem um direcionamento antes de começar os estudos *in vitro* e *in vivo* (WU, et al. 2020; MALIEHE, et al., 2020; CHIONG et al., 2021).

Desta forma, MACARINI et al. realizaram estudos *in silico* avaliando 300 compostos derivados do pirazol. Destes, 6 compostos apresentaram os melhores resultados, e foram selecionados para serem sintetizados e avaliados *in vitro*. Ao final do estudo, os autores concluíram que os resultados *in silico* e *in vitro* corroboram entre si e os compostos poderiam ser avaliados em modelos *in vivo* como inibidores da ciclooxigenase-2 (MACARINI et al., 2019). HEGDEN et al., descreveram um estudo de avaliação *in silico* das propriedades ADMET, síntese e avaliação biológica de novos derivados de carbazol. Neste trabalho, os autores avaliaram 20 novos compostos e selecionaram apenas os que apresentaram os melhores resultados *in silico* para seguir com as avaliações *in vitro*. Como resultado, concluíram que alguns dos derivados apresentaram atividade antibacteriana e antifúngica (HEGDEN et al., 2021). GHANNAY et al. empregando métodos *in silico*, avaliaram as propriedades ADMET e

a bioatividade de novos compostos trifluormetilados, derivados de isoxazolidinas. Nesse estudo, as previsões do potencial farmacoterapêutico e de toxicidade das moléculas apresentaram boa conformidade entre as propriedades antimicrobianas avaliadas *in vitro* e *in silico*. Os resultados obtidos encorajaram o uso dos compostos avaliados para futuras avaliações *in vivo* (GHANNAY et al., 2020).

O composto orgânico pirazol e seus derivados, são descritos apresentar amplo potencial sintético e farmacológico, tais como antimicrobiano, anticâncer e anti-inflamatório (KHAN et al., 2016 e ALI et al., 2020). Ainda, derivados de pirazol e compostos contendo o elemento selênio em sua estrutura são descritos apresentar potenciais atividades antioxidantes (AGONIGI et al., 2020 e ACKER et al., 2009). Os antioxidantes são definidos como substâncias capazes de prevenir ou reparar os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROS) (HALLIWELL et al., 1999; RUAN et al., 2012; TACHAKITTIRUNGROD et al., 2007). As EROS são benéficas para o biosistema, realizando funções de sinalização a defesa imunológica. Porém, níveis elevados de EROS podem apresentar efeitos prejudiciais, causando danos a tecidos e órgãos (YANG et al., 2020). As EROS são descritas estar associadas ao câncer, pois diferentes tipos de células tumorais demonstraram produzir níveis elevados de EROS em comparação com células normais (PANIERI et al., 2016). E os antioxidantes podem proteger o corpo humano dos radicais livres e dos efeitos das EROS. Eles retardam o progresso de muitas doenças crônicas, bem como a peroxidação lipídica (GULCIN, 2020).

No presente estudo, avaliamos as propriedades farmacocinéticas, farmacodinâmicas, toxicológicas e o potencial antioxidante de compostos derivados de 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazol, contendo o elemento Se ou S na sua estrutura, com o auxílio de quatro softwares: Osiris Property Explorer, SwissADME, Molinspiration e Pass online. Os resultados das análises *in silico* destes compostos são comparados com dados previamente reportados na literatura (OLIVEIRA, et al., 2020).

## MATÉRIAS E MÉTODOS

A síntese dos compostos derivados de 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazol, sendo estes o (3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanyl)-1*H*-pirazol) (**1a**), (3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsulfanyl)-1*H* -pirazol) (**1b**) e o (3,5-dimetil-4-(fenilselanyl)-1*H*-pirazol) (**1c**) (Figura 1) foi descrita previamente na literatura (OLIVEIRA et al., 2015).

## **ANÁLISES *IN SILICO***

Diferentes análises foram avaliadas com os compostos alvo, a fim de realizar um levantamento teórico quanto as suas características farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas. Para avaliação ADMET foram utilizados três softwares: Osiris Property Explorer, SwissADME e Molinspiration.

### ***Osiris Property Explorer***

O programa Osiris Property Explorer da Actelion Pharmaceuticals é um programa de acesso gratuito disponível na internet, no qual é possível desenhar estruturas químicas em duas dimensões e estimar, com um bom grau de confiabilidade, algumas propriedades físico-químicas, biológicas e drug-like (KAPETANOVIC, 2008) relevantes no planejamento de novos fármacos. Este programa está fundamentado no uso de uma lista de fragmentos distintos, gerados a partir da quebra das ligações simples nas moléculas, que estão associados a uma classificação de similaridade a fármacos (drug-likeness) (AYATI et al., 2012; KHAN et al., 2019).

A partir do programa Osiris Property Explorer, são obtidos dados relacionados ao risco de mutagenicidade, tumorogênico, irritação e efeitos no sistema reprodutor, além de buscar semelhança com fármacos e índice de aproximação para se tornar um potencial candidato a fármaco. O risco de toxicidade é baseado no banco de dados de substâncias químicas que possuem comprovadamente efeito tóxico (*Registry of Toxic Effects of Chemical Substances - RTECS*) e validado com um banco de dados contendo fármacos comercialmente disponíveis e largamente usado no mercado (SREENIVAS et al., 2020).

### ***SwissADME***

Já a ferramenta web SwissADME dá acesso gratuito a previsão de propriedades físico-químicas, lipofilicidade (logP) e da solubilidade em água (logS). Além disso, é possível analisar nove modelos farmacocinéticos: absorção gastrointestinal, permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB), ligação de glicoproteína-P (P-gp), permeação na pele (logKp), e inibição de cinco isoformas do CYP450.

As semelhanças com fármacos aprovados comercialmente podem ser avaliadas por diferentes filtros: regra Lipinski (LIPINSKI, 2012), regra Ghose (GHOSE et al., 1999), regra Veber (VEBER et al., 2002), regra Egan (EGAN et al., 2000) e regra Muegge (MUEGGE et al., 2000). E, a partir daí, analisar o número de violações de regras e quais propriedades discordam dessas regras.

Também é possível obter um gráfico de biodisponibilidade, que relaciona as moléculas de interesse com outros fármacos, na qual seis propriedades físico-químicas são levadas em consideração: lipofilicidade, tamanho, polaridade, solubilidade, flexibilidade e saturação (DAINA et al., 2017).

Assim, o acesso a todas as funcionalidades do SwissADME permite de forma rápida, fácil e eficiente a previsão dos parâmetros-chave para uma coleção de moléculas, os quais apoiam esforços na descoberta de potenciais fármacos (DAINA et al., 2017) através do site <http://www.swissadme.ch>.

### ***Molinspiration***

O software Molinspiration possui acesso gratuito através do site ([www.molinspiration.com](http://www.molinspiration.com)), onde podem ser analisadas propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas, além da predição de possíveis interações com enzimas e proteínas. O Molinspiration possui um banco de dados com moléculas aprovadas comercialmente com interações biológicas, e é capaz de processar um grande número de compostos em um curto espaço de tempo (CHIONG et al., 2021).

A partir dos dados obtidos no Molinspiration, é possível realizar a avaliação de área de superfície polar (PSA), o qual é um bom descritor de absorção de fármacos. Adicionalmente, é possível avaliar área absorção intestinal, biodisponibilidade, permeabilidade e barreira hematoencefálica (FATHIMA et al., 2020), o LogP (coeficiente de partição octanol / água), o qual é calculado como uma soma da contribuição baseada em fragmento e fator de correção (TAO et al., 1999). O número de ligações rotacionáveis é outro parâmetro para medir a flexibilidade molecular e a biodisponibilidade oral de compostos protótipos de fármacos (CHIONG et al., 2021).

### ***Previsão do espectro de atividade para substâncias (Pass) Online®***

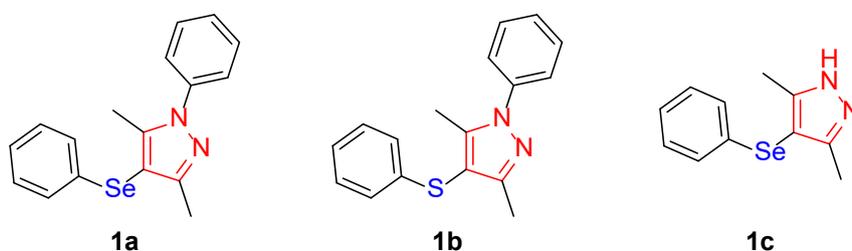
O software Pass Online® pode ser acessado gratuitamente através do endereço: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>. Este software foi projetado para avaliar a atividade biológica das moléculas orgânicas *in silico* quando em associação ao organismo humano (MALGORZATA et al., 2013). Através do programa, e com base na estrutura dos compostos orgânicos, é possível obter previsões simultâneas dos mais variados tipos de atividades biológicas. Permitindo assim, avaliar o potencial de atividade de uma substância por meio de

índices, que são classificados em probabilidade de ser ativo (Pa) e probabilidade de ser inativo (Pi) (SRINIVAS et al., 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A eficácia e segurança são fatores fundamentais que afetam o potencial número de novas moléculas a se tornarem fármacos, e, portanto, a avaliação *in silico* das propriedades ADMET é um processo importante no design, descoberta e desenvolvimento de novos medicamentos (OLASUPO, et al. 2021). Os compostos **1a** – **1c** derivados de 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazol (**Figura 1**) foram previamente reportados na literatura (OLIVEIRA et al., 2015) e apresentam interessantes propriedades biológicas em investigações *in vitro* e *in vivo* (OLIVEIRA et al., 2020).

**Figura 1.** Estruturas moleculares dos compostos 1a – 1c.



Com o objetivo de ampliar potenciais aplicações farmacológicas desses compostos, realizamos um estudo teórico avaliando as propriedades ADMET dos compostos **1a** – **1c**.

Inicialmente, foram obtidos dados relacionados ao risco de toxicidade (mutagênico, tumorogênico, irritante e efeitos no sistema reprodutor), “druglikeness” (semelhança com fármacos) e “drugscore” (índice de aproximação para se tornar um potencial candidato a fármaco) a partir do software Osiris Property Explorer.

Os dados, descritos na **Tabela 1**, indicam que os compostos **1a** – **1c** não apresentam efeitos de carcinogenicidade e/ou mutagenicidade, assim como não devem ser substâncias irritantes ou apresentar efeitos tóxicos ao sistema reprodutor. Os experimentos *in vivo*, nos quais foram avaliadas a toxicidade aguda desses compostos, em uma única administração oral de 300 mg/kg, não resultou na morte de nenhum animal nem interferiu na redução de massa corporal ou no consumo de água e comida. Além disso, nesta mesma dosagem não foi verificado alteração das atividades de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), nem os níveis de ureia e creatinina (OLIVEIRA et al., 2020). Sendo assim, foi observado com os dados obtidos através do software Osiris Property Explorer, que os compostos não

apresentam toxicidade aparente, logo coincidindo os resultados dos estudos experimentais *in vivo* citados anteriormente.

Também foram obtidos valores de *Drug-score* que combinaram com os valores obtidos de Drug-Likeness, cLogP (lipofilicidade), logS (solubilidade), massa molecular e riscos toxicológicos em um único valor de modo a avaliar se a molécula tem potencial para se tornar um fármaco. Valores Drug-score mais próximos de um indicam um bom perfil. Analisando os valores de *Drug-score*, presentes na **Tabela 1**, a molécula que apresenta um melhor potencial farmacológico é a **1b**, contendo o elemento enxofre.

**Tabela 1.** Estudos toxicológicos e farmacocinéticos empregando Osiris Property Explorer.

Parâmetros avaliados	1a	1b	1c
Mutagênico	Não	Não	Não
Tumorigênico	Não	Não	Não
Irritante	Não	Não	Não
Efeitos no sistema reprodutor	Não	Não	Não
<i>Drug-likeness</i>	-1,99	2,71	-3,7
<i>Drug-score</i>	0,42	0,75	0,46

Fonte: Osiris Property Explorer.

A partir do software SwissADME, foi possível coletar dados relacionados a farmacocinética das moléculas **1a** – **1c** e os dados estão expressos na **Tabela 2**.

Os estudos com o SwissADME, apresentados na **Tabela 2**, indicam que o composto **1b** pode inibir diferentes isoformas do citocromo P450 (CYP450 CYP2C19, CYP2C9 e CYP3A4). Já o composto **1a** se mostrou seletivo, inibindo apenas duas isoformas e o composto **1c** não foi capaz de inibir nenhuma isoforma do citocromo P450. A família das isoenzimas CYP atuam na eliminação de fármacos por meio da biotransformação metabólica, sendo assim, a inibição dessas isoenzimas leva a efeitos colaterais devido a menor eliminação do fármaco e de seus metabólicos (KIRCHMAIR et al., 2015). Quanto mais isoformas do citocromo P450 uma molécula é capaz de inibir, maior será a probabilidade de estar envolvida em interações medicamentosas clínicas (GUAN et al., 2019).

Um dos parâmetros importantes no estudo de um novo medicamento é se ele será absorvido ou não pelo trato gastrointestinal, pois este parâmetro determina a taxa e a extensão da absorção humana afetando sua biodisponibilidade (GUAN et al., 2019). Conforme os dados obtidos e apresentados na **Tabela 2**, a absorção gastrointestinal se mostrou alta para os três

compostos analisados. Além disso, as moléculas também apresentam potencial para atravessar a barreira hematoencefálica.

**Tabela 2.** Estudo farmacocinético empregando SwissADME.

<b>Parâmetros avaliados</b>	<b>1<sup>a</sup></b>	<b>1b</b>	<b>1c</b>
CYP1A2-Inibição	Não	Sim	Não
CYP2C19-Inibição	Não	Sim	Não
CYP2C9-Inibição	Não	Sim	Não
CYP2D6-Inibição	Sim	Sim	Não
CYP3A4-Inibição	Sim	Sim	Não
Absorção Gastrointestinal	Alta	Alta	Alta
Glicoproteína-P – Inibição	Sim	Não	Não
Permeabilidade na pele (cm/s)	-5,23	-4,47	-5,96
Penetração na BHE	Sim	Sim	Sim
LogP	2,62	4,24	1,57

**Fonte:** SwissADME.

A glicoproteína de permeabilidade (P-gp) é uma proteína transportadora envolvida em diversos processos fundamentais, como absorção intestinal, metabolismo de drogas, distribuição e excreção (GUAN et al., 2019). E o conhecimento sobre a interação dos compostos com a glicoproteína-P é a chave para avaliar o efluxo da parede gastrointestinal para o lúmen ou cérebro (MONTANARI et al., 2015). O composto que apresentou inibição da P-gp foi o composto **1a**.

A lipofilicidade de uma molécula é uma das propriedades mais importantes no processo farmacocinético, sendo considerada nos estudos de absorção intestinal, permeabilidade da membrana, ligação a proteínas e distribuição em diferentes tecidos. Esse descritor é definido, geralmente, pelo coeficiente de partição (P) de um composto entre 1-octanol e água, sendo expresso na forma logarítmica (LogP) (RAEVSKY, 2004).

A absorção oral de mais de 2000 fármacos foi analisada, e com isso foi possível prever um intervalo de lipofilicidade ideal dos fármacos (LogP) entre 1-5 (TETKO et al., 2007). Os fármacos que apresentam valores de LogP maiores que cinco são fármacos muito lipofílicos, geralmente insolúveis nos líquidos corpóreos, apresentando dificuldade de interação com as células, o que prejudica a sua absorção (WHALEN et al., 2016). Já os fármacos que apresentam valores de LogP menores que 1 são fármacos muito hidrofílicos, e tal propriedade dificulta sua passagem pelas membranas celulares ricas em lipídeos (BARREIRO et al., 2015). Os três

compostos (**1a** – **1c**) apresentaram baixa capacidade de absorção na pele e  $\text{LogP} < 5$ , conforme apresentado na **Tabela 2**.

As propriedades moleculares obtidas através do software Molinspiration são apresentadas na **Tabela 3**, e foram comparados com a Regra dos Cinco (RO5) de Lipinski ou “*rule of five*”. As propriedades moleculares relevantes, de acordo com a regra dos cinco, envolvem que o protótipo candidato a fármaco apresente boa biodisponibilidade oral ( $\text{Log P} \geq 5$ ), valor de massa molecular ( $\leq 500$  g/mol), área de superfície polar (PSA) ( $\leq 140 \text{ \AA}^2$ ), soma do número de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio ( $< 12$ ), máximo de 10 grupos aceptores de ligação de hidrogênio (nALH) e máximo de 5 grupos doadores de ligação de hidrogênio (nDLH) (FATHIMA et al., 2020; LIPINSKI, 2004; VEBER et al. 2002).

**Tabela 3.** Propriedades moleculares obtidas através do software Molinspiration

Parâmetros avaliados	1a	1b	1c
logP	4,44	4,0	3,10
PSA	17,83	17,83	28,68
n. de átomos	20	20	14
MM	327,39	280,40	251,19
n. ALH	2	2	2
n. DLH	0	0	1
n. ligações rotacionáveis	3	3	2
n. violações (R5)	0	0	0

PSA: área de superfície polar; n: número; MM: massa molecular; ALH: aceptores de ligação de hidrogênio; DLH: doadores de ligação de hidrogênio; R5: Regra dos cinco (Clark e Pickett, 2000; Lipinski, 2004).

**Fonte:** software Molinspiration.

Extensões da RO5 foram criadas para melhorar as estimativas de toxicidade, desta forma, as moléculas promissoras a fármacos devem possuir logP na faixa de -0,4 a +5,6, refratividade molar entre 40 e 130  $\text{m}^3/\text{mol}$ , peso molecular entre 180 a 500 daltons, número de átomos entre 20 a 70, superfície polar  $< 140 \text{ \AA}^2$  e  $< 10$  ligações rotacionáveis (GHOSE et al., 1999). O número de ligações rotacionáveis, corresponde ao número de ligações simples fora de um anel, ligado a um átomo não terminal. Quanto maior o número de ligações rotacionáveis, maior será a predição da biodisponibilidade (LIPINSKI et al., 2012). O peso molecular está diretamente relacionado a área da superfície polar (PSA), influenciando na permeabilidade desses compostos através da barreira hematoencefálica (ULLAH et al., 2019).

Para os compostos **1a** – **1c** foram analisados todos os requisitos propostos pela RO5 e foi averiguado que nenhum dos compostos apresenta qualquer violação da regra. Tanto o valor

do número de aceptores (nALH), quanto de doadores de ligações de hidrogênio (nDLH) se enquadram na regra de Lipinski. Ainda, o logP de todos os compostos ficou abaixo de 5 e a massa molecular ficou dentro de 500 daltons, indicando estes que estes compostos podem apresentar boa biodisponibilidade se ingeridos pela via oral.

Após, a avaliação dos resultados das propriedades farmacocinéticas, a próxima etapa consistiu em analisar as propriedades farmacodinâmicas dos compostos. A farmacodinâmica descreve a relação entre os efeitos e a concentração do fármaco (BYUN et al., 2020).

**Tabela 4.** Pontuação de bioatividade obtidas através do software Molinspiration.

<b>Parâmetros avaliados</b>	<b>1a</b>	<b>1b</b>	<b>1c</b>
Receptor acoplado a proteína G	-0,10	-0,34	-0,57
Modulador de canal iônico	-0,11	-0,45	-0,29
Inibidor da proteína quinase	-0,03	-0,36	-0,29
Receptor nuclear	-0,16	-0,36	-0,95
Inibidor de protease	-0,21	-0,34	-0,91
Inibidor enzimático	0,02	-0,20	-0,19

Pontuações > 0,00 indicam alta atividade, enquanto pontuações entre 0,00 a -0,5 indicam atividade moderada e pontuações < -0,5 indicam inatividade (Paramashivam et al., 2015).

**Fonte:** Molinspiration

Diversas patologias estão relacionadas com mecanismos enzimáticos, tendo em vista que diversos processos fisiológicos e patológicos envolvem a participação de enzimas. Fármacos que atuam como inibidores enzimáticos são utilizados no tratamento de diversas enfermidades, tais como, a doença de Alzheimer e a depressão (SOARES et al., 2019).

As propriedades farmacodinâmicas de **1a** – **1c** foram avaliadas teoricamente através do software Molinspiration. Os parâmetros avaliados, tais como: possibilidade de os candidatos atuarem como ligante de receptor acoplado a proteína G (GPCR), moduladores de canal iônico, inibidores de quinases, proteases ou de enzimas e a nível nuclear, atuando em ligantes de receptores nucleares, são apresentados na **Tabela 4**.

Os compostos **1a** e **1b** apresentam valores de “score” de bioatividade com moderada atividade entre (0,00 a -0,5). Os valores obtidos para o candidato **1c** indicam inatividade como inibidor de proteases (-0,91), receptor nuclear (-0,95) e no receptor acoplado a proteína G (-0,57). Os valores observados na **Tabela 4** indicam que **1a** possui alta atividade como inibidor enzimático (0,02), além de atividade moderada como ligante de receptor acoplado a proteína G, modulador de canal iônico, ligante de receptor nuclear, inibidor de quinase e protease. Entretanto, a atividade mais bem avaliada para os candidatos **1a** – **1c** é a de inibidor enzimático.

A análise de atividade biológica *in silico* foi realizada por meio do software Pass Online®. Os resultados são expressos em Pa = probabilidade de ser ativo e Pi = probabilidade de ser inativo e os valores variam de 0 a 1. Na **Tabela 5** podemos observar, que dentre os compostos analisados (**Figura 1**), **1a** e **1c** (contendo o elemento Se) são previstos apresentar melhor atividade antioxidante e antineoplásica se comparado com o candidato **1b** (contendo o elemento S). O composto **1b** não apresentou nenhum resultado na atividade anticarcinogênica, uma vez que quando o valor de Pa é inferior a 0,5 é pouco provável que o composto exiba experimentalmente a referida atividade avaliada *in silico* (LAGUNIN et al., 2000).

**Tabela 5-** Atividade Antioxidante obtida através do software Pass Online.

Parâmetros avaliados	1a		1b		1c	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
Antioxidante	0,296	0,024	0,225	0,151	0,272	0,029
Antineoplásica	0,687	0,077	0,241	0,101	0,762	0,017
Anticarcinogênico	0,201	0,119	-	-	0,173	0,154
Peroxidase	0,181	0,105	0,151	0,129	0,258	0,075

**Fonte:** Pass Online.

A avaliação *in vitro* da atividade antioxidante dos compostos **1a** – **1c** foi previamente reportada (OLIVEIRA et al., 2020). Os compostos apresentaram atividades antioxidantes em concentrações iguais ou superiores a 50 µmol/L. No entanto, nenhum composto apresenta IC<sub>50</sub> porque eles não inibiram 50% do radical DPPH e ABTS+ (OLIVEIRA et al., 2020). Esse resultado corrobora com os dados observados através do software Pass Online, na qual o valores Pa são inferiores a 0,5, e com isso, já era esperando uma atividade em concentrações maiores.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho apresentamos um estudo *in silico* para avaliar as propriedades ADMET e biológicas de três compostos derivados de calcogenopirazóis, contendo Se ou S em sua estrutura (**1a** – **1c**).

Com os resultados do software Osiris Property Explorer foi realizado a previsão *in silico* do perfil de toxicidade desses compostos. Os resultados da análise indicam que os três compostos analisados não apresentam toxicidade aparente. Desta forma, os resultados *in silico* reforçam o ensaio experimental de toxicidade *in vivo*, previamente reportado.

No software SwissADME observamos que o composto **1a** apresentou as melhores propriedades ADME. Além disso, pode-se concluir que devem ser realizados maiores estudos

sobre as interações dos compostos com o citocromo P450, pois o composto **1b** apresentou inibição de todas as isoformas analisadas. O composto **1c** não foi capaz de inibir nenhuma isoforma do citocromo P450 apresentando os melhores resultados nesse parâmetro.

Através do software Molinspiration foi observado que nenhum composto violou a regra de Lipinski. O composto **1a** apresentou os melhores resultados, indicando esse composto como possível inibidor enzimático, ligante de receptor acoplado a proteína G, modulador de canal iônico, ligante de receptor nuclear, inibidor de quinase e protease.

As atividades biológicas dos três compostos foram avaliadas empregando o software Pass Online®. Observou-se nesse caso, que para os compostos **1a** e **1c**, ambos contendo o elemento selênio em sua estrutura, os valores dos parâmetros analisados indicam atividades antioxidante, antineoplásica e anticarcinogênica.

## REFERÊNCIAS

ACKER, C. I. et al. Antioxidant effect of alkynylselenoalcohol compounds on liver and brain of rats *in vitro*. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, v. 28, p. 280-287, 2009.

AGONIGI, G. B. et al. Mono-, di- and tetra-iron complexes with selenium or sulphur functionalized vinyliminium ligands: synthesis, structural characterization and antiproliferative activity. **Molecules**, v. 25, p. 1656, 2020.

ALI, S. A. et al. Design, synthesis, molecular modelling and biological evaluation of novel 3-(2-naphthyl)-1-phenyl-1H-pyrazole derivatives as potent antioxidants and 15-Lipoxygenase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 847-863, 2020.

AYATI, A. et al. Synthesis, *in vitro* antifungal evaluation and *in silico* study of 3-azolyl-4-chromanone phenylhydrazones. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, p. 46-52, 2012.

BARREIRO, E. J. et al. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BYUN, J. H. et al. Recent advances in physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic models for anticancer nanomedicines. **Archives of Pharmacal Research**, v. 43, p. 80-99, 2020.

CHIONG, S. W. et al. *In silico* studies on diacyl derivatives of phloroglucinol to enhance pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles of 2, 4, 6-trihydroxy-3-geranyl-acetophenone. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 13, p. 173-179, 2021.

CUNHA, M. G et al. Prediction of pharmacokinetic and toxicological parameters of a 4-phenylcoumarin isolated from geopropolis: *in silico* and *in vitro* approaches. **Toxicology Letters**, v. 263, p. 6-10, 2016.

DAINA, A. et al. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 07, p. 1-13, 2017.

EGAN, W. J. et al. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 3867-3877, 2000.

FATHIMA, S. S. A. et al. Synthesis, characterization and biological evaluation of novel bis (pyridin-3-ol) and metal complexes: molecular docking and in silico ADMET profile. **Structural Chemistry**, v. 31, p. 521-539, 2020.

FERREIRA, L. L. G. et al. ADMET modeling approaches in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 24, p. 1157-1165, 2019.

GHANNAY, S. et al. Synthesis, in vitro antimicrobial assessment, and computational investigation of pharmacokinetic and bioactivity properties of novel trifluoromethylated compounds using in silico ADME and toxicity prediction tools. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, v. 151, p. 267-280, 2020.

GHOSE, A. K. et al. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **Journal of Computational Chemistry**, v. 1, p. 55-68, 1999.

GUAN, L. et al. ADMET-score – a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. **Medicinal Chemistry Communications**, v. 10, p. 148-157, 2019.

GULCIN, İ. **Archives of Toxicology**, v. 94, p. 651-715, 2020.

HALLIWELL, B. et al. **Free Radicals in Biology and Medicine**. EUA: Oxford University Press, 1999.

HEGDEN, P. R. et al. *In silico* design, synthesis and biological evaluation of novel carbazole derivatives. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 13, p. 8-18, 2021.

KAPETANOVIC, I. M. Computer-aided drug discovery and development (CADD): *in silico*-chemico-biological approach. **Chemico-Biological Interactions**, v. 171, p. 165-76, 2008.

KIRCHMAIR, J. et al. Predicting drug metabolism: experiment and/or computation? **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, p. 387-404, 2015.

KHAN, M.F. et al. The therapeutic voyage of pyrazole and its analogs: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 120, p. 170-201, 2016.

KHAN, T. et al. Computational drug designing and prediction of important parameters using *in silico* methods - a review. **Bentham Science Publishers**, v. 15, p. 384-397, 2019.

LAGUNIN, A. et al. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. **Bioinformatics**, v. 16, p. 747-748, 2000.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 4-17, 2012.

LIPINSKI, C. A. Lead and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 1, p. 337-341, 2004.

MACARINI, A. F. et al. Pyrazole – chalcone derivatives as selective COX-2 inhibitors: design, virtual screening, and *in vitro* analysis. **Medicinal Chemistry Research**, v. 28, p.1235-1245, 2019.

MALGORZATA, N. D. et al. Combination of ligand- and structure based methods in virtual screening. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 10, p. 395-401, 2013.

MALIEHE, T. S. et al. Computational evaluation of ADMET properties and bioactive score of compounds from encephalartos ferox. **Pharmacognosy Journal**. v. 12, p. 1357-1362, 2020.

MCHICHI, E. L. et al. *In silico* design of novel pyrazole derivatives containing thiourea skeleton as anti-cancer agents using: 3D QSAR, drug-Likeness studies, ADMET prediction and molecular docking. **Materialstoday: Proceedings**, v. 45, p. 7661-7674, 2021.

MONTANARI, F. et al. Prediction of drug-ABC-transporter interaction–recent advances and future challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 86, p. 17-26, 2015.

MUEGGE, I. et al. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 1841-1846, 2001.

OLASUPO, S. B. et al. Computer-aided drug design and in silico pharmacokinetics predictions of some potential antipsychotic agentes. **Scientific African**, v. 12, p. 734-748, 2021.

OLIVEIRA, D. H. et al. Direct synthesis of 4-organyl-selanylpyrazoles by copper-catalyzed one-pot cyclocondensation and C-H bond selenylation reactions. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v. 357, p. 4041-4049, 2015.

OLIVEIRA, D. H. et al. Evaluation of antioxidant activity and toxicity of sulfur- or selenium-containing 4-(arylchalcogenyl)-1H-pyrazoles. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 98, p. 441-448, 2020.

PANIERI, E. et al. ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liason in cancer cells. **Cell Death Dis**, v. 7, p. 2253-2265, 2016.

RAEVSKY, O. A. Physicochemical descriptors in property-based drug design. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 1041-1052, 2004.

RUAN B. F. et al. Synthesis, characterization, and antitumor activities of two copper(II) complexes with pyrazole derivatives. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 65 p. 2127-2134, 2012.

SOARES, S. B. A. et al. Avaliação de uso de antidepressivos em uma farmácia privada na cidade de Cajazeiras – pb. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 15, p. 1-13, 2019.

SREENIVAS, B. K. A. et al. Designing of ligand-107 an effective variant of antimalarial drug lumefantrine through structure-based computer-aided drug development approach. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 14, p. 2-9, 2020.

SRINIVAS, N. et al. *In vitro* cytotoxic evaluation and detoxification of monocrotaline (Mct) alkaloid: an *in silico* approach. **International Invention Journal of Biochemistry and Bioinformatics**, v. 2, p. 20-29, 2014.

TACHAKITTIRUNGROD, S. et al. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. **Food Chemistry**, v. 103, p. 381-388, 2007.

TAO, P. et al. Calculating partition coefficients of peptides by the addition method. **Journal of Molecular Modeling**, v. 5 p. 189-195, 1999.

TETKO, I. V. et al. Can we estimate the accuracy of ADMET predictions? **Drug Discovery Today**, v. 11, p.700-707, 2006.

ULLAH, A. et al. Molecular docking and pharmacological property analysis of phytochemicals from clitoria ternatea as potent inhibitors of cell cycle checkpoint proteins in the cyclin/cdk pathway in cancer cells. **Computational Molecular Bioscience**, v. 9, p. 1-14, 2019.

VEBER, D. F. et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2615-2623, 2002.

WHALEN, K. et al. **Farmacologia ilustrada**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

WU, F. et al. Computational approaches in preclinical studies on drug discovery and development. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, p. 726-758, 2020.

YANG, S. et al. ROS and diseases: role in metabolism and energy supply. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 467, p. 1-12, 2020.

# CAPÍTULO 8

## ANÁLISE DA FITOPROTEÇÃO DO $\alpha$ -BISABOLOL CONTRA TOXICIDADE DO CLORETO DE MERCÚRIO (HgCl<sub>2</sub>)

DOI: 10.47402/ed.ep.c20217227585

**Agledison Vieira do Nascimento**, Centro Universitário de Juazeiro do Norte, CE, UNIJUAZEIRO

**Janaína Esmeraldo Rocha**, Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri, URCA, Crato, CE

**Camila Fonseca Bezerra**, Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri, URCA, Crato, CE

**Thiago Sampaio de Freitas**, Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri, URCA, Crato, CE

**João Tavares Calixto Júnior**, Laboratório de Estudos da Flora Regional do Cariri, Universidade Regional do Cariri, URCA, Crato, CE

**Henrique Douglas Melo Coutinho**, Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri, URCA, Crato, CE

**Aracélio Viana Colares**, Centro Universitário de Juazeiro do Norte, CE, UNIJUAZEIRO

### RESUMO

A contaminação, por mercúrio, em solos e água compromete de forma significativa a qualidade de vida no planeta. Atividades antrópicas como a indústria metalúrgica, a mineração, indústrias químicas, dentre outras, vem causando alterações ambientais significativos em detrimento, principalmente, do uso indiscriminado do mercúrio. O uso de plantas ou compostos derivados e extraídos de espécies vegetais vem sendo demonstrado como promissora alternativa no processo de fitorremediação, sendo este método menos agressivo ao meio ambiente e economicamente viável. O objetivo deste projeto foi avaliar a capacidade do  $\alpha$ -bisabolol em reduzir a toxicidade do cloreto de mercúrio em modelos microbiológicos e vegetais, através de mecanismos antioxidante e quelantes. Utilizou-se ensaios microbiológicos por microdiluição para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Foi avaliado o potencial citoprotetor em bactéria, fungo e vegetais, a capacidade antioxidante e atividade quelante. A interação do  $\alpha$ -bisabolol com o mercúrio foi avaliada a partir dos danos observados na membrana em radículas e caulículos de sementes germinadas de *Lactuca sativa*. O  $\alpha$ -bisabolol, apresentou atividade antioxidante com relação ao seu valor de EC<sub>50</sub>, quando comparado com o controle positivo BHT. Além disso, conferiu citoproteção ao modelo bacteriano utilizado no estudo. A concentração de 64  $\mu$ g/mL foi a escolhida após a análise visual, pois apresentou maior desenvolvimento e crescimento de radículas e caulícolas de *L. sativa*. Para a análise da extensão de caulícolas e radículas a concentração de 0.05 mM o  $\alpha$ -bisabolol, permitiu um maior crescimento da radícula. Na menor concentração do metal (0.01 mM), as radículas apresentaram um crescimento estatisticamente significativo, ( $p < 0.05$ ), quando o metal pesado foi associado ao sesquiterpeno. Houve, ainda, um aumento na massa seca das radículas quando as sementes de *L. sativa* receberam o tratamento com cloreto de mercúrio associado ao  $\alpha$ -bisabolol na concentração de 0.01 mM do metal, evidenciando que o  $\alpha$ -bisabolol conseguiu proteger as radículas de *L. sativa*. O  $\alpha$ -bisabolol não conferiu citoproteção ao modelo eucariótico fúngico, porém promoveu citoproteção ao modelo bacteriano. Mostrou-se eficaz,

também, contra a ação do cloreto de mercúrio no modelo eucariótico vegetal, observado pelo maior crescimento radicular, bem como pela preservação tecidual radicular, demonstrada pelo aumento da massa seca, resultando em citoproteção das sementes de alface.

**PALAVRAS-CHAVES:** Fitoproteção, alfa-bisabolol, cloreto de mercúrio

## INTRODUÇÃO

Os metais pesados são potentes contaminantes do meio ambiente, estando presentes em solos, água, sedimentos, ar e organismos vivos. Tais contaminantes são considerados problemas ambientais de difícil resolução, haja vista trazerem riscos para todos os ecossistemas, em virtude de sua elevada toxicidade (Armah et al. 2014; Abdolali et al. 2017). A atividade antropogênica é a principal fonte de contaminação, principalmente devido ao crescente desenvolvimento tecnológico. Frente a isso, a biodiversidade global vem sofrendo reduções constantes, provocando impactos negativos sobre o ambiente (Sweet and Zelikoff 2001; Gratão et al. 2005; Horowitz et al. 2014).

Dentre os metais pesados, um dos mais perigosos, tóxicos e prejudiciais para a vida microbiana, vegetal, animal e humana é o mercúrio que gera preocupação junto às populações e à comunidade científica (Patra and Sharma 2000; Who 2007; Jain 2013; Wolff et al. 2016). O mercúrio (Hg) é um elemento químico tóxico e bioacumulativo encontrado naturalmente na crosta terrestre, podendo se apresentar sob diversas formas químicas, tais como elementar (metálico), orgânica (etil ou metil-Hg) ou inorgânica (HgCl<sub>2</sub>), sendo todas estas formas tóxicas para o ambiente em altos níveis (Boening 2000; Bjorklund et al. 2017).

A fim de reduzir os danos causados pela toxicidade do mercúrio no ambiente, faz-se necessário a busca por métodos alternativos menos danosos e economicamente viáveis (Maciel et al. 2013). Neste contexto, o uso de óleos essenciais, extratos ou compostos naturais derivados e extraídos de espécies vegetais têm demonstrado elevado potencial de fitorremediação contra metais pesados, devido às comprovadas ações citoprotetoras e antioxidantes em modelos procarióticos e eucarióticos, frente à toxicidade do cloreto de mercúrio (Lima et al. 2014; José-Júnior et al. 2016; Leite et al. 2017; Cunha et al. 2019). Nesse sentido, o estudo de compostos com propriedades antioxidantes é de grande valia para a descoberta de substâncias eficientes na fitorremediação de ambientes contaminados por metais pesados (Sobral-Souza et al. 2019a).

Pertencente a classe de substâncias naturais biologicamente ativas, o  $\alpha$ -bisabolol, também denominado levomenol, é um álcool sesquiterpeno monocíclico insaturado de baixo peso molecular, encontrado como componente majoritário do óleo essencial de diversas

espécies vegetais como na *Matricaria Chamomilla*, *Vanillosmopsis arborea*, *Eremanthus erythropappus* e *Salvia runcinata* (Kamatou and Viljoen 2010). Diversas bioatividades são descritas para este composto, incluindo efeito anti-inflamatório (Leite et al. 2011; Munoz-Perez et al. 2018), antinociceptivo (Melo et al. 2016; Teixeira et al. 2017), gastroprotetora (Bezerra et al. 2009; Rocha et al. 2011); nefroprotetora (Sampaio et al. 2016), neuroprotetora (Fernandes et al. 2019); antitumoral (Wu et al. 2018; Rigo et al. 2018). Essas atividades podem ser atribuídas à alta capacidade antioxidante do  $\alpha$ -bisabolol (Braga et al. 2009).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante e citoprotetora do  $\alpha$ -bisabolol em modelo eucariótico vegetal, modelo procarioto e eucarioto fúngico frente à ação tóxica do cloreto de mercúrio.

## **METODOLOGIA**

### **SUBSTÂNCIAS**

O  $\alpha$ -bisabolol foi adquirido da Sigma<sup>®</sup> (St. Louis, EUA) e o cloreto de mercúrio da Vetec Química Fina LTDA (Brasil).

### **MICROORGANISMOS**

Os microorganismos utilizados foram a bactéria *Escherichia coli* 06 (EC 06) e o fungo *Candida albicans* 40006 (CA INCQS 40006), fornecido pelo Laboratório de Micologia da Universidade Federal da Paraíba - UFPB e pela FIOCRUZ através do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), respectivamente.

### **ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH**

Foi preparado soluções com diferentes concentrações do  $\alpha$ -bisabolol (250, 125, 50,25, 10 e 5  $\mu\text{g/mL}$ ) em triplicata. Em um tubo foram misturados 100  $\mu\text{L}$  da solução do extrato e 3,9 mL de solução de 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) 0,06 mM. Para o branco, a amostra foi substituída por 100  $\mu\text{L}$  de etanol. As leituras foram realizadas utilizando um filtro de comprimento de onda de 520 nm. A curva padrão foi determinada realizando leituras no mesmo comprimento de onda (515 nm), porém com soluções de DPPH em diferentes concentrações (10  $\mu\text{M}$ , 20  $\mu\text{M}$ , 30  $\mu\text{M}$ , 40  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  e 60  $\mu\text{M}$ ), sendo o branco determinado por etanol (Sanchez-Moreno 1998). Usou-se BHT (2,6-di-terc-butil-4-metil-fenol) como controle positivo, que causa o sequestro completo dos radicais livres. A porcentagem de sequestro é calculada como:  $100[(X/Y) - 1]$ , onde:

X = absorvância com DPPH

$Y$  = absorvância com DPPH mais absorvância da substância teste.

A partir dos valores de absorvância no tempo de 30 min para cada concentração testada, foi determinada a concentração eficiente, quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE<sub>50</sub>) (Sousa et al. 2007).

### **CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA**

A concentração inibitória mínima (CIM) do  $\alpha$ -bisabolol foi avaliado por um ensaio de microdiluição de acordo com Coutinho et al. (2008), com modificações.

### **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOPROTETOR EM BACTÉRIAS E FUNGOS CONTRA CLORETO DE MERCÚRIO**

Para a avaliação do efeito citoprotetor do  $\alpha$ -bisabolol sobre o cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>), os *eppendorfs* contendo concentrações sub-inibitórias das amostras e suspensões a 10<sup>5</sup> UFC/mL de *Escherichia coli* 06 (EC 06) e *Candida albicans* (CA 40006) foram preparadas em meio BHI a 10%. Os ensaios foram realizados por microdiluição de acordo com Leite et al. (2017). A concentração de metal variou de: 5 mM a 0,00244 mM de mercúrio. Placas de microdiluição foram incubadas por 48 h a 37 °C em uma estufa.

Em seguida, as Concentrações Bactericidas Mínimas (CBM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) foram determinadas. Placas de Petri com Agar Infusão de Coração (HIA) foram utilizadas para transferir as soluções incubadas nas placas de microdiluição. Uma alíquota de cada poço da placa de microdiluição foi sub-cultivada em placas de HIA. Após 24 h de incubação a 35 ± 2 °C, a leitura foi feita, com o objetivo de observar o crescimento das colônias. As leituras de CBM e CFM foram realizadas com base no crescimento dos controles microbianos, sendo o CBM e CFM definidos como a menor concentração do  $\alpha$ -bisabolol que inibiu o crescimento visível da subcultura (Shadomy et al. 1985).

### **TESTE DE ALELOPATIA DO A-BISABOLOL EM SEMENTES DE *LACTUCA SATIVA* L.**

Testes pilotos foram realizados para determinar o efeito de alelopático das amostras em estudo, utilizando o método descrito por Sobral-Souza et al. (2014a,b) e Coutinho et al. (2017). Os ensaios foram realizados em triplicada e expressos como significativos.

## **AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR DO $\alpha$ -BISABOLOL CONTRA CLORETO DE MERCÚRIO EM MODELO VEGETAL (*L. SATIVA*)**

Para realizar o teste, as placas de Petri foram preparadas conforme descrito por Sobral-Souza et al. (2014a,b) e Coutinho et al. (2017). Foi utilizada uma concentração sub-alelopática do  $\alpha$ -bisabolol (64  $\mu\text{g/mL}$ ), bem como do Cloreto de Mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ), variando de 1,25 mM a 0,01 mM, segundo Coutinho et al. (2017). Os parâmetros analisados ao final dos sete dias foram: contagem de sementes germinadas, índice de taxa de germinação (GRI), biometria caulicular e radicular, ocorrência de necrose radicular e anormalidades de plântulas, seguindo o Manual de Regras para Análise de Sementes (Brazil 2009). Sementes cujas raízes atingiram 1 mm ou mais de comprimento foram consideradas germinadas. Os testes foram realizados em triplicada e expressos como significativos.

### **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados dos microrganismos são apresentados como a média geométrica  $\pm$  SEM de três repetições. A análise estatística do teste utilizou uma ANOVA de dois sentidos seguida de teste post-hoc de Bonferroni com ( $p < 0,0001$ ). Todos os outros resultados foram apresentados utilizando a média aritmética  $\pm$  SEM de três repetições com ANOVA de dois sentidos, seguido de teste pós-hoc de Tukey com  $p < 0,0001$ .

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO DPPH**

O DPPH utilizado no estudo é um radical caracterizado pela presença de uma coloração púrpura, entretanto ao receber um elétron de algum agente antioxidante esta coloração é perdida, ou seja, a redução da intensidade dessa coloração é diretamente proporcional à quantidade de moléculas de DPPH que foram estabilizadas (Sanchez-Moreno et al. 1998). Os antioxidantes são substâncias que retardam ou inibem a oxidação do substrato em baixas concentrações quando comparadas ao substrato oxidável, com isso podendo impedir os danos teciduais (Aquino et al. 2017).

O sesquiterpeno,  $\alpha$ -bisabolol, apresentou uma atividade antioxidante considerável, onde os valores da  $\text{EC}_{50}$  tanto do controle como do produto foram equivalentes, sendo que o  $\alpha$ -bisabolol ainda apresentou um melhor resultado quando comparado ao controle positivo (Tabela 1).

Outros estudos têm demonstrado a atividade antioxidante do  $\alpha$ -bisabolol, composto que pode estar presente tanto em extratos de espécies vegetais como em óleos essenciais. No trabalho de Leite et al. (2016), foi analisada a atividade antioxidante do extrato aquoso das folhas e do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* Baker, obtendo uma capacidade antioxidante de aproximadamente 60% e 40%, respectivamente. A presença do sesquiterpeno nos produtos testados, segundo os autores, foi um fator importante na atividade antioxidante.

Diversos óleos essenciais, em que o  $\alpha$ -bisabolol está presente, têm sido testados quanto ao seu potencial antioxidante. A espécie *Matricaria recutita* L. apresentou uma capacidade sequestrante do DPPH numa concentração de  $137.2 \mu\text{g/mL}^{-1}$ , utilizando como controle positivo, o antioxidante BHT (Farhoudi 2013). Já o óleo essencial de *Eryngium tricuspidatum* L. conseguiu reduzir o radical DPPH estável para a forma DPPH-H, demonstrando uma atividade antioxidante com valor da  $\text{IC}_{50} = 510 \mu\text{g/mL}$ . O alto nível de sesquiterpenos oxigenados encontrados no óleo essencial de *E. tricuspidatum* pode estar atuando como agentes de eliminação de radicais livres (Merghache et al. 2014).

## **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOPROTETOR EM BACTÉRIAS E FUNGOS CONTRA CLORETO DE MERCÚRIO**

De acordo com a Figura 1, percebe-se que o  $\alpha$ -bisabolol conferiu citoproteção estatisticamente significativa ( $p < 0.0001$ ) ao modelo bacteriano utilizado no estudo, uma vez que houve diminuição considerável da toxicidade do cloreto de mercúrio em associação com o composto, quando comparado com o controle, que é o metal utilizado isoladamente, causando, neste caso, antagonismo. Isso pode ser justificado pela capacidade antioxidante demonstrada pelo  $\alpha$ -bisabolol frente à ação tóxica do metal pesado estudado, exigindo maior concentração do metal para reduzir o número de cepas bacterianas.

Apesar da escassez de estudos com óleos essenciais e sesquiterpenos contra os efeitos tóxicos de metais pesados, diversos trabalhos verificaram o feito citoprotetor de outros compostos naturais frente à toxicidade do cloreto de mercúrio em modelos procarióticos. Por exemplo, a porção flavonoide das folhas de *Psidium guajava*, os extratos etanólicos das folhas de *Eugenia uniflora* L. e *Eugenia jambolana* L. proporcionaram citoproteção em *E. coli*, identificando-se na composição dos produtos substâncias antioxidantes e quelantes (Sobral-Souza et al. 2014a; Cunha et al. 2019; Sobral-Souza et al. 2019b). Além disso, outras duas substâncias naturais isoladas, o ácido caféico e o ácido gálico, na concentração sub-inibitória

de 32 µg/mL e 64 µg/mL, respectivamente, demonstraram efeitos sinérgicos e indiferentes frente a toxicidade do cloreto de mercúrio no modelo bacteriano (Rocha et al. 2019a,b).

Vale salientar que muitos microrganismos procariotos em resposta a presença de baixas concentrações de metais pesados expressam um conjunto de genes que lhes conferem um sistema complexo de resistência ao estresse oxidativo gerado pelo metal. (Bruins et al. 1999; Nies 2003). Bactérias Gram-negativas são microrganismos propensos a possuírem genes de resistência ao mercúrio (Wilson et al. 2000). Especificamente o modelo procarioto *E. coli*, quando induzido ou estimulado, pode expressar uma série de transportadores transmembranares e intracelulares que lhe confere resistência ao mercúrio (Babai and Ron 1998; Sone et al. 2013). Frente a isso, o resultado citoprotetor encontrado pode estar relacionado a um sinergismo entre a propriedade sequestrante de radicais livres do  $\alpha$ -bisabolol, reduzindo com isso o estresse oxidativo causado pelo metal pesado e a resistência intrínseca apresentada, possivelmente, pelo micro-organismo.

De acordo com a Figura 2, o  $\alpha$ -bisabolol não apresentou atividade citoprotetora para o modelo eucariótico fúngico usado nesse estudo, aumentando o número de cepas mortas quando associado com o cloreto de mercúrio, com isto, promovendo um sinergismo para toxicidade do metal pesado. Isto pode ser explicado pelo fato do  $\alpha$ -bisabolol possuir uma toxicidade intrínseca contra cepas fúngicas, inibindo uma enzima crucial para a formação do ergosterol, substância esta fundamental para a sobrevivência do micro-organismo (Jahanshiri et al. 2017). Com isto, a associação do composto natural ao cloreto de mercúrio diminuiu a quantidade necessária do metal pesado para matar a *Candida albicans*.

Outros produtos naturais com atividades antioxidantes também demonstraram efeitos negativos na citoproteção quando associados ao cloreto de mercúrio em espécies do gênero *Candida*, já o ácido gálico demonstrou resultado positivo frente aos efeitos deletérios do mercúrio inorgânico (Figueiredo et al. 2016; Rocha et al. 2019a,b; Sobral-Souza et al. 2019a,b).

## **AVALIAÇÃO DO EFEITO ALELOPÁTICO EM SEMENTES DE *LACTUCA SATIVA* L.**

A concentração alelopática do  $\alpha$ -bisabolol para as sementes de *L. sativa* foi maior que 512 µg/mL (Figura 3). Portanto, qualquer concentração inferior a esta pode ser utilizada no ensaio de citoproteção de sementes de *L. sativa*. Entretanto, a concentração de 64 µg/mL foi escolhida após a análise visual, pois apresentou maior desenvolvimento e crescimento de radículas e caulícolas.

Em um estudo feito para analisar o efeito alelopático do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* sobre sementes do mesmo modelo vegetal foi demonstrado que o produto natural não apresentou ação alelopática sobre a espécie avaliada. O sesquiterpeno  $\alpha$ -bisabolol foi o componente majoritário presente no óleo essencial (93.83%) (Marco et al. 2015).

### **AVALIAÇÃO DA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO**

De acordo com Solanki and Dhankhar (2011), a germinação de sementes é um processo crucial para a primeira interface de troca com o meio circundante, sendo este processo considerado sensível às mudanças ambientais. Como pode ser visto na Figura 4, na maior concentração do metal (1,25 mM) em associação com  $\alpha$ -bisabolol ocorreu à germinação das sementes de alface acima dos 50%. Nas demais concentrações do metal não houve diferenças significativas entre os resultados. Rocha et al. (2019b), avaliando a taxa de germinação das sementes do mesmo modelo vegetal, utilizando o ácido gálico, também um produto natural, na concentração sub-inibitória obtiveram um valor de 64  $\mu\text{g/mL}$ , apresentando um melhor resultado com o metal pesado isolado na concentração de 1,25 mM, em comparação a associação do composto com o cloreto de mercúrio.

### **EFEITO CITOPROTETOR SOBRE $\text{HgCl}_2$ EM SEMENTES DE ALFACE**

Na Figura 5, nas maiores concentrações de metais e associações de  $\alpha$ -bisabolol, não foram observadas diferenças no crescimento de radículas. No entanto, na concentração de 0.05 mM, um melhor resultado (mesmo que não tenha sido estatisticamente significativo) foi observado quando o  $\alpha$ -bisabolol foi adicionado ao cloreto de mercúrio, permitindo um maior crescimento da radícula. Na menor concentração do metal (0.01 mM) estudado, as radículas apresentaram um crescimento estatisticamente significativo, ( $p < 0.05$ ), quando o metal pesado foi associado ao sesquiterpeno testado.

As raízes são estruturas fundamentais para a absorção de nutrientes e metais pelos organismos vegetais, estando em contato direto com maiores concentrações de metais pesados em solos contaminados (Sethy and Ghosh 2013). Neste órgão vegetal, concentrações altas de mercúrio podem causar estresse oxidativo (Gallego et al. 1996; Cargnelutti et al. 2006), elevando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e aumento da peroxidação lipídica (Cho and Park 2000) que causam danos proteicos, lipídicos e nucleares, prejudicando assim o crescimento de tecidos vegetais (Nagajyoti et al. 2010; Cui et al. 2017). Por estas razões, a ação citoprotetora encontrada pelo  $\alpha$ -bisabolol possivelmente pode estar associado ao seu potente efeito redutor e inibidor da peroxidação lipídica alterada (Meeran et al. 2018), bem

como eliminador de radicais livres, ao reduzir a formação de EROs (Leite et al. 2016), além de poder aumentar a atividade da superóxido dismutase (SOD) (Rocha et al. 2011), com isto reduzindo o estresse oxidativo causado pelo cloreto de mercúrio no vegetal, favorecendo o maior desenvolvimento do tecido radicular do modelo eucariótico vegetal.

Os resultados apresentados na Figura 5 assemelham-se aos de Rocha et al. (2019b) em que o ácido gálico, na concentração sub-alelopática (64 µg/mL), demonstrou citoproteção de sementes de *L. sativa* contra a ação tóxica do cloreto de mercúrio, permitindo assim melhor desenvolvimento de radículas em comparação a exposição ao metal pesado isoladamente, na concentração de 0.01 mM. Além disso, quando em associação com o cloreto de mercúrio, na concentração de 0.01 mM, promoveu boa citoproteção em radículas e caulículas no mesmo modelo eucariótico vegetal (Rocha et al. 2019a). Além disso, o extrato hidroalcoólico de *Psidium brawnianum*, extrato etanólico de *E. uniflora* e o extrato etanólico de *E. jabolana*, respectivamente, conseguiram promoveram reduções da toxicidade do cloreto de mercúrio, permitindo o crescimento de radículas e caulículas de *L. sativa* (Sobral-Souza et al. 2014a; Leite et al. 2017; Cunha et al. 2019). Em todos os estudos, a proteção celular obtida foi atribuída à atividade antioxidante exercida pelo produto natural.

## **AVALIAÇÃO DE PESO SECO**

Observou-se um aumento na massa seca das radículas ( $p < 0001$ ) (Figura 6) quando as sementes do vegetal receberam o tratamento com cloreto de mercúrio associado ao  $\alpha$ -bisabolol na concentração de 0.01 mM do metal, evidenciando que o  $\alpha$ -bisabolol conseguiu proteger as radículas do modelo eucariótico vegetal.

Um aumento na porcentagem de massa seca demonstra que o  $\alpha$ -bisabolol não só confere citoproteção para as sementes de *L. sativa* contra a toxicidade do cloreto de mercúrio, mas também interfere na formação tecidual do vegetal, permitindo maior crescimento radicular, consequentemente, conferindo maior preservação dos tecidos do modelo eucarioto vegetal.

As contaminações de plantas por metais pesados têm afetado seriamente seus ciclos biológicos (Sharma and Agrawal 2005), muitas vezes causando interferências na divisão celular em virtude dos danos causados ao DNA e proteínas estruturais (Ai-Jun et al. 2007), que se expressam macroscopicamente como malformações e intracelularmente como perturbações fisiológicas (Emamverdian et al. 2015). Diante disso, nota-se que o  $\alpha$ -bisabolol conseguiu interferir na toxicidade exercida pelo cloreto de mercúrio, podendo ser aplicado para a redução da contaminados de solos por metais pesados.

Em comparação com outros compostos naturais, os quais apresentaram resultados semelhantes, o ácido caféico mostrou-se eficaz contra a ação tóxica do cloreto de mercúrio no mesmo modelo vegetal, aumentando a massa seca de radículas e caulículas (Rocha et al. 2019a). Já o ácido gálico, outro tanino, obteve resultados positivos para a proteção tecidual de radículas da *L. sativa*, quando o composto foi associado ao metal pesado na menor concentração (0.01 mM), apresentando também atividade antioxidante demonstrada por ensaios diferentes dos nossos (Rocha et al. 2019b).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O  $\alpha$ -bisabolol não conferiu citoproteção ao modelo eucariótico fúngico, porém promoveu citoproteção nos modelos bacteriano e vegetal contra ação do cloreto de mercúrio, sendo que neste último observou-se maior crescimento radicular com preservação tecidual evidenciado pelo aumento da massa seca de *Lactuca sativa*. Esta atividade citoprotetora pode estar relacionada à ação antioxidante apresentada pelo sesquiterpeno.

Esses resultados demonstram de forma promissora, a utilização de compostos naturais no processo de minimização dos danos ambientais causados pela contaminação por metais pesados.

## REFERÊNCIAS

Abdolali, A., Ngo, H. H., Guo, W., Zhou, J. L., Zhang, J., Liang, S., et al. (2017). Application of a breakthrough biosorbent for removing heavy metals from synthetic and real wastewaters in a lab-scale continuous fixed-bed column. *Bioresource Technology*, 229, 78-87.

Ai-Jun., Zhang, X., Chen, M., & Cao, Q. (2007). Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. *Journal of Environmental Sciences*, 19(5), 596-602.

Aquino, V. V. F., Costa, J. G. M., Angélico, E. C., Medeiros, R. S., Araújo, M. F., & Rodrigues, O. G. (2017). Secondary metabolites and antioxidant action of *Croton heliotripifolius* and *Croton blanchetianus*. *Acta Brasiliensis*, 1(3), 7-10.

Armah, F. A., Quansah, R., & Luginaah, I. (2014) A systematic review of heavy metals of anthropogenic origin in environmental media and biota in the context of gold mining in Ghana. *International Scholarly Research Notices*, <https://doi.org/10.1155/2014/252148>.

Babai, R., & Ron, E. Z. (1998). An *Escherichia coli* gene responsive to heavy metals. *FEMS Microbiology Letters*, 176, 107-111.

Bezerra A, S. B., Leal, L. K. A. M., Nogueira, N. A. P., & Campos, A. R. (2009). Bisabolol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: role of prostaglandins, nitric oxide, and K<sup>+</sup><sub>ATP</sub> Channels. *Journal of Medicinal Food*, 12(6), 1403-1406.

- Bjorklund, G., Dadar, M., Mutter, J., & Aasth, J. (2017). The toxicology of mercury: current research and emerging trends. *Environmental Research*, 159, 545-554.
- Boening, D. W. (2000). Ecological effects, transport and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40, 1335-1351.
- Braga, P. C., Sasso, M. D., Fonti, E., & Culici, M. (2009). Antioxidant activity of bisabolol: inhibitory effects on chemiluminescence of human neutrophil bursts and cell-free systems. *Pharmacology*, 83(2), 110-115.
- Brazil. (2009). Ministry of Agriculture. Department of plant production, division of seeds and seedlings. In *Rules for seed analysis*. LANARV/SNAD/MA, Brasília. (In Portuguese).
- Bruins, M. R., Kapil, S., & Oehme, F. W. (2000). Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45, 198-207.
- Cargnelutti, D., Tabaldi, L. A., Spanevello, R. M., Oliveira, G., Battisti, V., Redin, M., et al. (2006). Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. *Chemosphere*, 65(6), 999-1006.
- Coutinho, H. D. M., Costa, J. G. M., Lima, E. O., Falcão-Silva, V. S.; & Siqueira-Júnior, J. P. (2008). Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* and chlorpromazine. *Chemotherapy*, 54(4), 328-330.
- Coutinho, H. D. M., Martins, G. M. A. B., Morais-Braga, M. F. B., Menezes, I. R. A., Machado, A. J. T., Freitas, M. A., et al. (2017). *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. as an adjuvant for the plant germination and development under toxic concentrations of HgCl<sub>2</sub> and AlCl<sub>3</sub>. *Water Air Soil Pollut*, 228, 421-424.
- Cho, U. H., & Park, J. O. (2000). Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Science*, 156(1), 1-9.
- Cui, W., Wang, H., Canção, J., Cao, X., Rogers, H. J., Francis, D., et al. (2017). Cell cycle arrest mediated by Cd-induced DNA damage in Arabidopsis root tips. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145, 569-574.
- Cunha, F. A. B., Pinho, A. I., Santos, J. F. S., Sobral-Souza, C. E., Albuquerque, R. S., Matias, E. F. F., et al. (2019). Cytoprotective effect of *Eugenia uniflora* L. against the waste contaminant mercury chloride. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 4197-4203.
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F., Xie, Y. (2015) Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *The Scientific World Journal*, <https://doi.org/10.1155/2015/756120>.
- Farhoudi, R. (2013). Chemical constituents and antioxidant properties of *Matricaria recutita* and *Chamaemelum nobile* essential oil growing wild in the South West of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(4), 531-537.
- Fernandes, M. Y. D., Carmo, M. R. S., Fonteles, A. A., Nenes, J. C. S., Silva, A. T. A., Pereira, J. F., et al. (2019). (-)- $\alpha$ -bisabolol prevents neuronal damage and memory deficits through reduction of proinflammatory markers induced by permanent focal cerebral ischemia in mice. *European Journal of Pharmacology*, 842, 270-280.

- Figueiredo, F. G., Lima, L. F., Morais-Braga, M. F. B., Figueiredo, J. G., Pinto, N. B., Matias, E. F. F., et al. (2016). Potential assessment cytoprotective against toxic effect of chloride of mercury and *Lygodium antioxidant venustum* SW (Lygodiaceae). *Revista Interfaces*, 3(9), 44-49.
- Gallego, S. M., Benavides, M. P., & Tomaro, M. L. (1996). Effect of heavy metal ion excesso on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Science*, 121(2), 151-159.
- Gratão, P. L., Polle, A., Lea, P. J., & Azevedo, R. A. (2005). Making the life of heavy metals-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology*, 32(6), 481-494.
- Horowitz, H. M., Jacob, D. J., Aamos, H. M., Streets, D. G., & Sunderland, E. M. (2014). Historical mercury releases from commercial product: global environmental implications. *Environmetal Science e Technology*, 48, 10242-10250.
- Jain, R. K. (2013). Study of heavy metals effects in response to linum seed germination. *African Journal Plant Science*, 7(3), 93-109.
- Jahanshiri, Z., Shams-Ghafarokhi, M., Asghari-Paskiabi, F., Saghiri, R., & Razzaghi-Abyaneh, M. (2017)  $\alpha$ -bisabolol inhibits *Aspergillus fumigatus* Af239 growth via affecting microsomal  $\Delta$ 24-sterol methyltransferase as a crucial enzyme in ergosterol biosynthesis pathway. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(3), 55. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2214-9>.
- José-Júnior, G. A. S., Coutinho, H. D. M., Borls, T. C. C., Cristo, J. S., Pereira, N. L. F., Figueiredo, F. G., et al. (2016). Chemical characterization and Cytoprotective effect of the hydroethanol extract from *Annona coriácea* Mart. (Araticum). *Pharmacognosy Research*, 8(4), 253-257.
- Kamatou, G. P. P., & Viljoen, A. M. (2010). A review of the application and pharmacological properties of  $\alpha$ -bisabolol and  $\alpha$ -bisabolol-rich oils. *Journal of the American Oil Chemists` Society*, 87, 1-7.
- Leite, G. O., Leite, L. H. I., Sampaio, R. S., Araruna, M. K. A.; Menezes, I. R. A., Costa, J. G. M., et al. (2011). (-)- $\alpha$ -bisabolol attenuates visceral nociception and inflammation in mice. *Fitoterapia*, 82, 208-211.
- Leite, G. O., Dubois, A. F., Seeger, R. L., Boligon, A. A., Costa, J. G. M., Lugokenski, T. H., et al. (2016). *In vitro* antioxidant activity investigation of *Vanillomopsis arborea* Baker aqueous extracts, essential oil and isolated compound: (-)- $\alpha$ -bisabolol. *Pharmacologia*, 7(4), 193-201.
- Leite, N. F., Sobral-Souza, C. E., Albuquerque, R. S., Pinho, A. I., Cunha, F. A. B., & Coutinho, H. D. M. (2017). Reduction of the toxic effect of mercurium chloride by chelating effect of *Psidium brownianum* Mart. Ex DC. *International Biodeterioration e Biodegradation*, 119, 538-541.
- Lima, C. N. F., Valero, T. F., Leite, N. F., Alencar, L. B. B., Matias, E. F. F., Kerntof, M. R., et al. (2014). Protective action of *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff. against toxicity due to mercury chloride in *Escherichia coli*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1), 179-188.

Maciel, G. M., Souza, C. G. M., Araújo, C. A. V., Bona, E., Haminiuk, C. W. I., Castoldi, R., et al. (2013). Biosorption of herbicide picloram from aqueous solutions by live and heat-treated biomasses of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Trametes* sp. *Chemical Engineering Journal*, 215-216, 331-338.

Marco, C. A., Santos, H. R., Feitosa, A. G. S., Feitosa, J. V., & Costa, J. G. M. (2015). Content, yield and quality of essential oil *Vanillosmopsis arborea* (Gardner) Baker (candeeiro) and its allelopathy. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(1), 131-141.

Melo, L. T., Duailibe, M. A. B., Pessoa, L. M., Costa, F. N., Vieira-Neto, A. E., Abdon, A. P. V., et al. (2016). (-)- $\alpha$ -bisabolol reduces orofacial nociceptive behavior in rodents. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 330(2), 187-195.

Meeran, M. F. N., Laham, F., Al-Tae, H., Azimullah, S., & Ojha, S. (2018). Protective effects of  $\alpha$ -bisabolol on altered hemodynamics lipid peroxidation, and nonenzymatic antioxidants in isoproterenol-induced myocardial infarction: in vivo and in vitro evidences. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(10), 1-6.

Merghache, D. Boucherit-Otmani, Z., Merchache, S., Chikhi, I., Selles, C., & Boucherit, K. (2014). Chemical composition, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of Algerian *Erygium tricuspidatum* L. essential oil. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 28(11), 795-807.

Munoz-Perez, V. M., Ortiz, M. I., Ponce-Monter, H. A., Monte-Pérez, V., & Barragán-Ramirez, G. (2018). Anti-inflammatory and útero-relaxant effect of  $\alpha$ -bisabolol on the pregnant human uterus. *The Korean Journal Physiology e Pharmacology*, 22(4), 391-398.

Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199-216.

Nies, D. H. (2003). Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 27,313-339.

Patra, M., & Sharma, A. (2000). Mercury toxicity in plants. *The Botanical Review*, 66(3), 379-422.

Rigo, A., Ferrarini, I., Bonalumi, A., Tecchio, C., Montesor, A., Laudanna, C., et al. (2018). Efficient lysis of B-chronic lymphocytic leucemia cells by the plant-derived sesquiterpene alcohol  $\alpha$ -bisabolol, a dual proapoptotic and antiautophagic agent. *Oncotarget*, 9(40), 25877-25890.

Rocha, N. F. M., Oliveira, G. V., Araújo, F. Y. R., Rios, E. R. V., Carvalho, A. M. R.; Vasconcelos, L. F., et al. (2011). (-)- $\alpha$ -bisabolol-induced gastroprotection is associated with reduction in lipid peroxidation, superoxide dismutase activity and neutrophil migration. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 44(4), 455-461.

Rocha, J. E., Guedes, T. T. A. M., Bezerra, C. F., Costa, M. S., Campina, F. F., Freitas, T. S., et al. (2019a). Mercury chloride phytotoxicity reduction using antioxidative mechanisms evidenced by caffeic acid FTIR. *Applied Geochemistry*, 104, 109-115.

Rocha, J. E., Guedes, T. T. A. M., Bezerra, C. F., Costa, M. S., Campina, F. F.; Freitas, T. S., (2019b). Identification of the gallic acid mechanism of action on mercury chloride toxicity

reduction using infrared spectroscopy and antioxidant assays. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 141, 24-29.

Sone, Y., Nakamura, R., Pan-Hou, H., Itoh, T., & Kilyono, M. (2013). Role of MerC, MerE, MerF, MerT and/or MerP in resistance to mercurials and the transporte of mercurials in *Escherichia coli*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 36(11), 1835-1841.

Sampaio, T. L., Menezes, R. R. P. B., Costa, M. F. B., Menezes, G. C., Arrieta, M. C. V., Chaves-Filho, et al. (2016). Nephroprotective effects of (-)- $\alpha$ -bisabolol against ischemic-reperfusion acute kidney injury. *Phytomedicine*, 23(14), 1843-1852.

Sanchez-Moreno, J. A., Larrauri, F., Saura-Calixto, A. A. (1998). Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.

Sethy, S. K., & Ghosh, S. (2013). Effects of heavy metals on germination of seeds. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 4(2), 272-275.

Shadomy, S., Espinel-Ingroff, A., & Cartwright, R. (1985). Laboratory studies with antifungal agentes: susceptibility test and bioassay. In Lennett, E. H., Ballows, A., Hausler-Júnior, W. J., & Shadomy, H. J. (Eds.), *Manual of clinical Microbiology*, (pp. 991-999), 4 ed. Washington: American Society of Microbiology.

Sharma, R. K., & Agrawal, M. (2005). Biological effects of heavy metals: an overview. *Journal of Environmental Biology*, 26 (2 suppl), 301-313.

Silvério, M. S., Del-Vechio-Vieira, G., Pinto, M. A. O., Alves, M. S., & Souza, O. V. (2013). Chemical composition and biological activities of essential oils of *Eremanthus erythropappus* (DC) Mcleisch (Asteraceae). *Molecules*, 18(8), 9785-9796.

Sobral-Souza, C. E., Leite, N. F., Cunha, F. A. B., Pinho, A. I. Albuquerque, R. S., Carneiro, J. N. P., et al. (2014a). Cytoprotective effect against Mercury chloride and bioinseticidal activity of *Eugenia jambolana* Lam. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(1), 165-170.

Sobral-Souza, C. E., Leite, N. F., Cunha, F. A. B., Pinho, A. I., Costa, J. G. M., & Coutinho, H. D. M. (2014b). Evaluation of cytoprotective and antioxidant activity of the extracts of *Eugenia uniflora* Lineau e *Psidium sobleianum* Proença & Landrum against heavy metals. *Revista Ciencias de la Salud*, 12 (3), 401-409.

Sobral-Souza, C. E., Silva, A. R. P., Leite, N. F., Rocha, J. E., Souza, A. K., Costa, J. G. M.; et al. (2019a). Phytotoxicity reduction of the mercury chloride effect by natural product from *Eugenia jambolana* Lam.: a new strategy against the toxic metal pollution. *Ectotoxicology and Environmental Safety*, 170, 461-467.

Sobral-Souza, C. E., Silva, A. R. P., Leite, N. F., Rocha, J. E., Souza, A. K., Costa, J. G. M., et al. (2019b). *Psidium guajava* bioactive product chemical analysis and heavy metal toxicity reduction. *Chemosphere*, 216, 785-793.

Solanki, R., & Dhankhar, R. (2011). Biochemical changes and adaptive strategies of plants under heavy metal stress. *Biologia*, 66(2), 195-204.

Sousa, C. M. M., Silva, H. R., Vieira-Júnior, G. M., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S., Araújo, D. S., et al. (2007). Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. *Química Nova*, 30, 351-355.

Sweet, L. I., & Zelikoff, J. T. (2001). Toxicology and immunotoxicology of mercury: a comparative review in fish and humans. *Journal of Toxicology and Environment Health Part B*, 4(2), 161-205.

Teixeira, G. F. D., Costa, F. N., & Campos, A. R. (2017). Corneal antinociceptive effect (-)- $\alpha$ -bisabolol. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1089-1092.

Vale, J. P. C. D., Ribeiro, L. H. F., Vasconcelos, M. A., Sá-Firmino, N. C., Pereira, A. L., Nascimento, M. F. D., et al. (2019) Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activities of *Vitex gardneriana* schauer leaves's essential oil. *Microbial Pathogenesis*, 135, 103607.

Who. (2007). Exposure to mercury: a major public health concert. In *environmental health criteria*. Geneva: World Health Organization.

Wilson, J. R., Leang, C., Morby, A. P., Hobman, J. L., & Brown, N. L. (2000). MeF is a mercury transport protein: different structures but a common mechanism for mercuric ion transportes?. *FEBS Letters*, 472(1), 78-82.

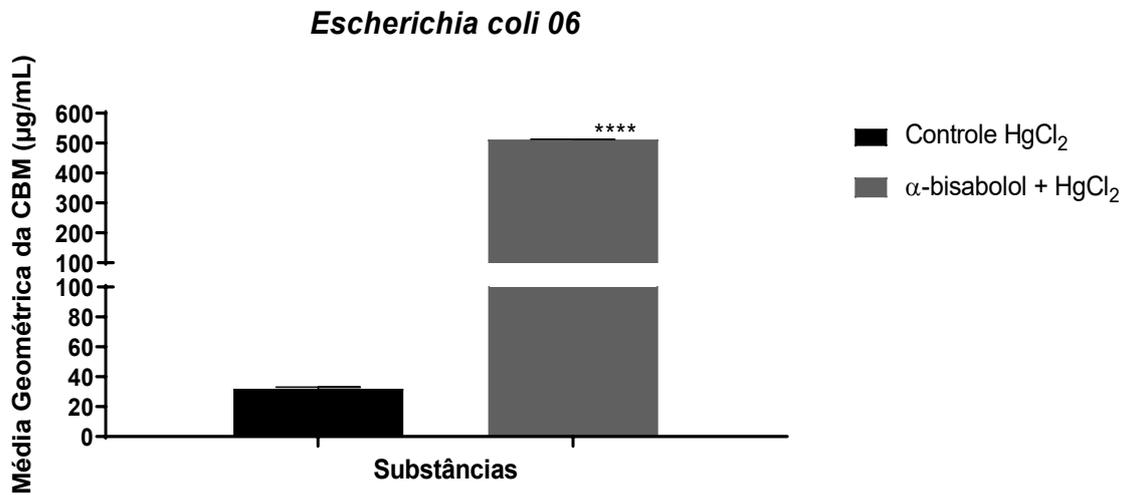
Wolff, S., Brown, G., K., Chen, J., Meals K., Thornton, C., Brewer, S., et al. (2016). Mercury concentrations in fish from three major lakes in north Mississippi: Spatial and temporal differences and human health risk assessment. *Journal of Toxicology and Environment Health Part A*, 79(20), 894-904.

Wu, S., Peng, L., Sang, H., Li, Q., & Chen, S. (2018). Anticancer effects of  $\alpha$ -bisabolol in human non-small cell lung carcinoma cells are mediated via apoptosis induction, cell cycle arrest, inhibition of cell migration and invasion and upregulation of P13K/AKT signalling pathway. *Journal of BUON*, 23(5), 1407-1412.

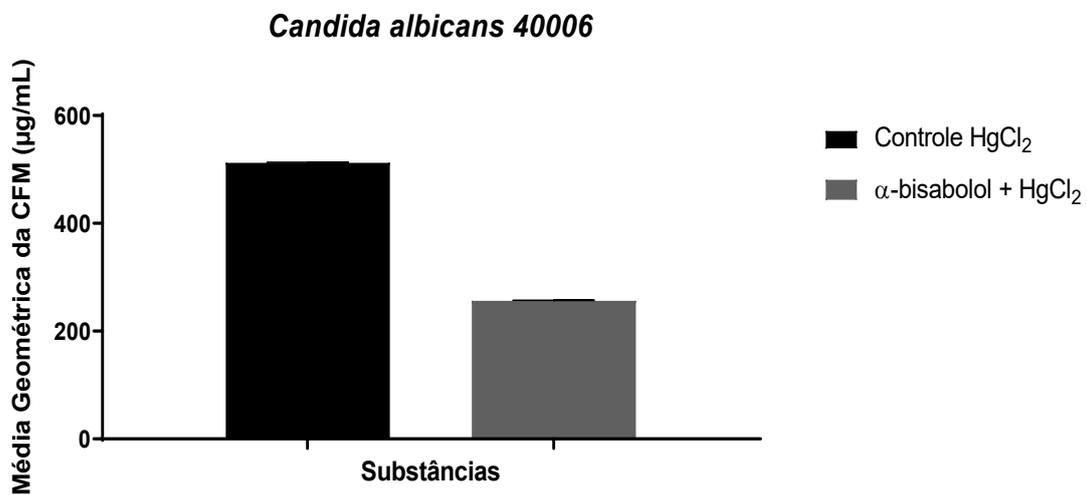
**Tabela 1.** Atividade antioxidante do  $\alpha$ -bisabolol a partir da redução do radical livre DPPH

Produto	EC <sub>50</sub> (DPPH) (mmol/g)
BHT	1.88 ± 0.27
$\alpha$ -bisabolol	1.19 ± 0.86

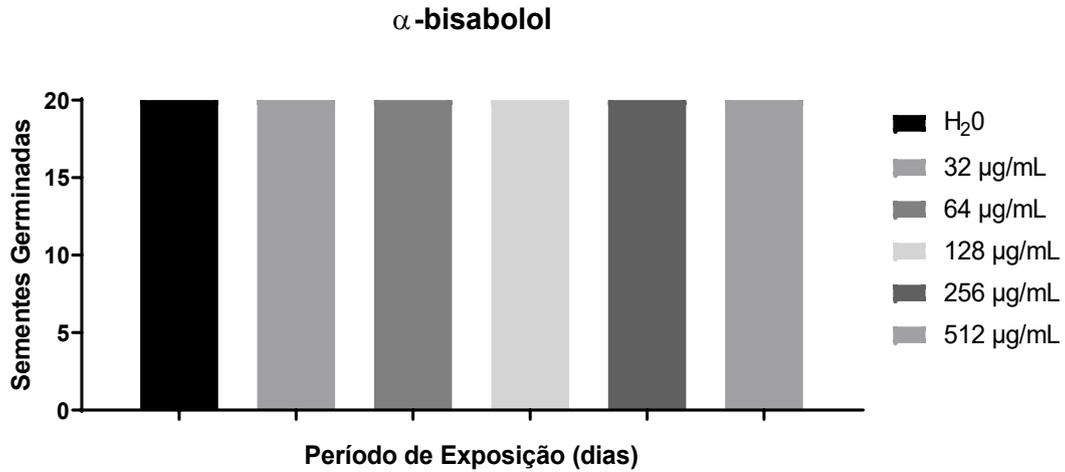
Fonte: Autoria própria, 2021.



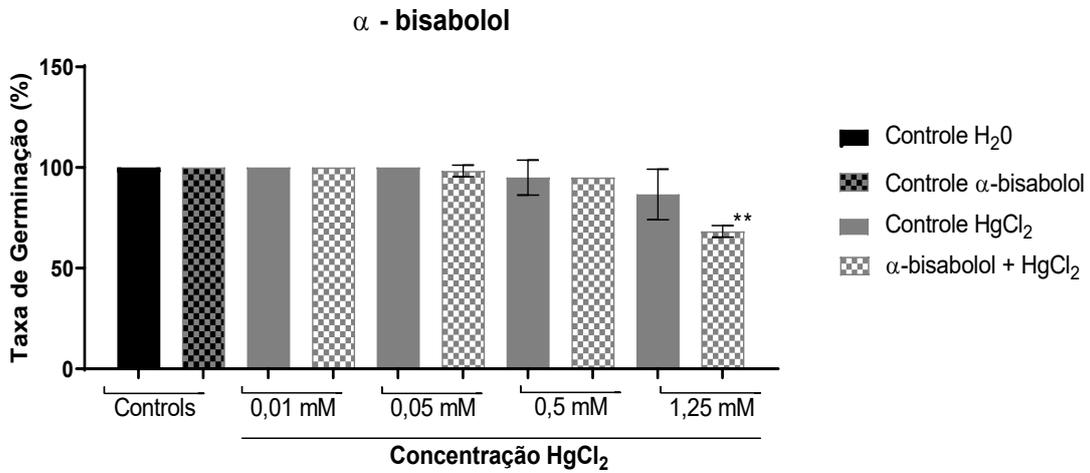
**Figura 1:** Associação do  $\alpha$ -bisabolol ao cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>) frente ao modelo celular procariótico bacteriano



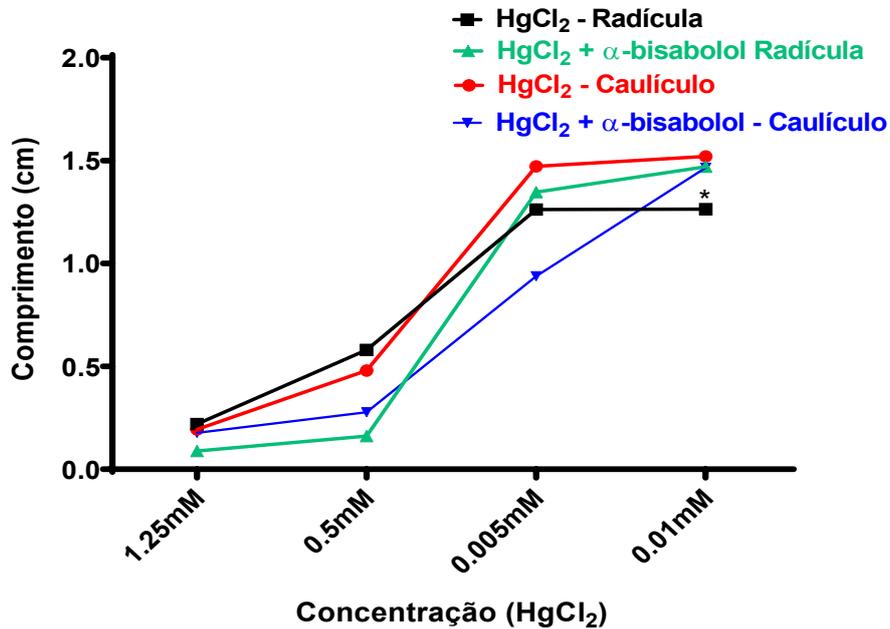
**Figura 2:** Associação do  $\alpha$ -bisabolol ao cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ) frente ao modelo celular eucariótico fúngico



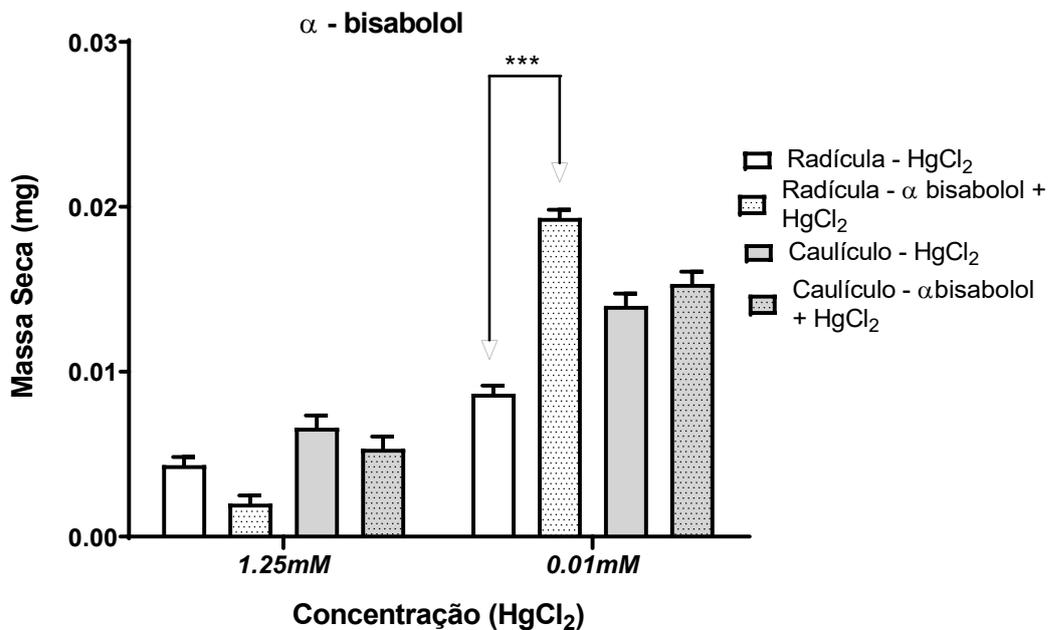
**Figura 3:** Desenvolvimento das sementes de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações do  $\alpha$ -bisabolol por um período de sete dias



**Figura 4:** Velocidade de germinação das sementes de *Lactuca sativa* observada com água (controle) e com cloreto de mercúrio isolado ou em associação com  $\alpha$ -bisabolol durante um período de setes dias



**Figura 5:** Efeito do cloreto de mercúrio isolado ou em associação com o  $\alpha$ -bisabolol na extensão de caulículos e radículas de *Lactuca sativa* germinado por um período de sete dias



# CAPÍTULO 9

## PRODUÇÃO E USO DO SABONETE ORGÂNICO DE AROEIRA COMO ALTERNATIVA PARA O CONSUMO VERDE

DOI: 10.47402/ed.ep.c20217238585

**Adão Nilson Carneiro Braga Junior**, Discente de Biologia, IFPI  
**Klayriene Sebastiana Alves Soares**, Discente de Biologia, IFPI  
**Maria Aparecida Vieira dos Santos Soares**, Discente de Biologia, IFPI  
**Max Wagno Mascarenhas dos Santos**, Mestre em Engenharia de Materiais. Professor de Química, IFPI  
**Diogo Augusto Frota de Carvalho**, Mestre em Desenvolvimento e Meio Ambiente. Professor de Biologia, IFPI

### RESUMO

O consumo verde é um tipo de consumo consciente sustentável onde o critério de compra não considera apenas o preço e a qualidade do produto, mas principalmente as questões ambientais envolvidas na produção, distribuição e descarte do mesmo. Os cosméticos orgânicos, com ingredientes naturais certificados, surgem atualmente como uma alternativa aos cosméticos tradicionais, cujos componentes e processos industrializados podem trazer diversos prejuízos ao meio ambiente e à saúde humana. O objetivo deste artigo foi a produção e uso de um sabonete orgânico de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) como uma alternativa sustentável para o uso do sabonete tradicional. A pesquisa foi realizada no Instituto Federal do Piauí (IFPI), campus Uruçuí, com dezesseis acadêmicos do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas. No primeiro momento, foi desenvolvido o sabonete orgânico de aroeira, no Laboratório de Química do IFPI, seguindo os critérios do Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes (RDC nº 48/2013). Em seguida, foram selecionados voluntariamente os participantes, após os mesmos concordarem em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), recebendo cada um uma barra de sabonete para testes durante um período de uma semana. Logo após esse período de uso, os acadêmicos responderam a um questionário semiestruturado sobre os impactos ambientais da indústria cosmética e sobre o uso desse sabonete orgânico de aroeira. Do total de participantes, 66,7% afirmaram que os cosméticos convencionais produzidos contendo substâncias derivadas do petróleo provocam poluição ambiental, demonstrando assim conhecimento dos impactos ambientais desses cosméticos. Quanto ao uso do sabonete orgânico, 94,74% relataram que não tiveram alergia ou sensibilização, sendo que 75% afirmaram que poderiam substituir seus sabonetes convencionais pelo de aroeira. As características positivas mais observadas pelos participantes em relação ao uso do sabonete orgânico foram: eficiência de limpeza (26%), espuma macia e cremosa (21%), poder anti-inflamatório (12,5%) e bom hidratante (9%). Conclui-se assim que sabonete de aroeira pode ser uma alternativa viável em relação ao sabonete tradicional, estimulando assim o consumo verde na população.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cosmético Orgânico. Sabonete. Sustentabilidade.

## INTRODUÇÃO

O planeta Terra, principalmente após o advento do capitalismo moderno pós-revoluções industriais, vive uma crise ambiental sem precedentes que ameaça de extinção grande parte da biodiversidade atual, incluindo a própria espécie humana. Essa nova extinção em massa, em curso e diferente das cinco anteriores, tem como cerne ocasional o *Homo sapiens sapiens*, cujos motivos dessa hecatombe ecológica são multifatoriais. O *bom sauvage* que convivia em harmonia com a natureza fez-se mito, e o sábio dos sábios, o penso porque existo, é o predador voraz do meio que se observa. Nessa predação da sexta extinção, pode-se citar o desmatamento, as poluições, caça e pesca irregular, dentre outros.

Nesse contexto de poluição inserem-se os cosméticos industrializados, de ampla fabricação e comercialização. Tais podem trazer malefícios diversos para o meio ambiente, como por exemplo a produção e despejo inadequado de resíduos sólidos de decomposição lenta, emissão de gases poluentes durante a fabricação (como o CO<sub>2</sub>, CO e o HCl), emissão de efluentes líquidos, além de vários outros resíduos industriais. Amplifica-se esse fato negativo a produção de substâncias como os parabenos, utilizadas na produção desse tipo de cosmético, que podem se acumular no organismo, causando algum problema de saúde (HIGUCHI, 2013).

Com alto teor tóxico, os parabenos possuem uma capacidade alérgica muito alta, causando reações de hipersensibilidade que podem ser divididas em reações irritativas imediatas ou acumulativas e alérgicas ou sensibilizantes, que é caracterizada por sensações de ardência, vermelhidão, sensação de coceira, podendo ocasionar patologias mais graves. Também podem provocar envelhecimento cutâneo e é comprovado que contém atividade estrogênica, gerando alterações endócrinas (CASSAROTTI, 2012).

Em contrapartida, não se podia assistir a essa degradação sem uma reação. Assim, a sociedade vem sendo ecologicamente conscientizada e passando a exigir cada vez mais a adoção de tecnologias de produção limpas, econômicas e ambientalmente corretas. Estes, por sua vez, requerem um enorme entusiasmo e esforço de estudantes, professores, pesquisadores e engenheiros, na Universidade e na Indústria, na busca de ingredientes diferenciados, naturais e competitivos e de processos de formulação inovadores (GALEMBECK, CSORDAS, 2011). Surge então um novo tipo de consumo, mais consciente, sustentável, o chamado Consumo Verde.

O consumo verde é aquele em que o consumidor, além de buscar melhor qualidade e preço, inclui no seu repertório de critérios de escolha o fator ambiental, dando preferência a

produtos e serviços que não agridam o meio ambiente nas etapas de produção, distribuição, consumo e descarte final (GONÇALVES, 2011). Trata-se de um consumo ambientalmente responsável, com mínimos impactos no meio ambiente, que conserva a natureza para as gerações futuras, cláusula que deveria ser pétrea em qualquer compêndio constitucional mundial.

Relacionado ao consumo verde, surgem então os cosméticos naturais e orgânicos, que se caracterizam por utilizar matéria prima de origem orgânica, devidamente certificados, que divergem dos tradicionais por possuírem ou não a presença de matéria prima vinda do extrativismo e ainda uma porcentagem de compostos de origem orgânica.

O cosmético natural é um produto que deve apresentar ao menos um ingrediente derivado de uma substância natural (extraído diretamente de uma planta), enquanto um cosmético orgânico deve contar com pelo menos 95% de ingredientes orgânicos na sua composição (ROMERO *et al.*, 2018). Por possuírem melhor compatibilidade com a pele humana, os cosméticos de origem orgânica causam menos irritação e alergia, pois possuem substâncias sintéticas substituídas por naturais com a mesma eficácia, porém com menos efeitos tóxicos, e as matérias-primas são considerados biodegradáveis e menos poluentes (HIGUSHI; DIAS, 2012).

De acordo com Miguel (2013), as mudanças relacionadas ao consumo de produtos orgânicos têm valorizado a biodiversidade, contribuindo para a redução dos impactos ambientais. A valorização desses produtos tem demonstrado uma mudança de hábito no consumo da população, tornando-a mais preocupada com questões ambientais.

A Aroeira é uma planta cuja árvore média tem entre de cinco e dois metros de altura. Quando adulta, possui a copa larga, sendo que o tronco pode chegar de 30 a 60 centímetros de diâmetro, com casca grossa. As folhas são compostas, com três a dez pares de folíolos imparipenados, aromáticos e medindo de três a cinco centímetros de comprimento por dois a três centímetros de largura. Já as flores são pequenas, com androceu e gineceu, em formato de panículas piramidais. Os frutos são drupas de um vermelho vivo, de quatro a cinco milímetros diâmetro, aromáticos, conferindo uma beleza singular à árvore (LORENZI; MATOS, 2008). Dentre os inúmeros benefícios da Aroeira, destacam-se atividades antialérgicas e anti-inflamatórias, propriedades bactericidas e antifúngicas, antioxidante, antiulcerogênica, cicatrizante e combate a certos tipos de câncer (GILBERT; FAVORETO, 2011).

O objetivo geral desta pesquisa foi apresentar uma nova alternativa ao consumo de produtos cosméticos do público alvo, que são as pessoas com hábitos de uso de cosméticos e produtos de higiene, através da produção de um sabonete orgânico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*). De modo mais específico, buscaram-se sensibilizar os alunos quanto aos impactos dos produtos industrializados e orgânicos, desenvolver produtos naturais utilizando matéria-prima orgânica da flora da região e apresentar alternativas para o uso de cosméticos convencionais. Justifica-se este artigo pela preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental propícia à vida, assegurando condições ao desenvolvimento socioeconômico, aos interesses da segurança nacional e à proteção da dignidade da vida humana, assim preconizado pelo artigo segundo Política Nacional do Meio Ambiente (Lei 6930/1981).

## **METODOLOGIA**

A pesquisa realizada é de natureza aplicada, pois buscou-se produzir um conhecimento a ser utilizado na vida cotidiana e real – os cosméticos orgânicos – sendo também qualitativa por buscar entender a concepção dos participantes quanto a esse produto, com relação à eficiência, praticidade e utilização diária.

O trabalho foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI) – campus Uruçuí, com acadêmicos do curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, sendo que ao todo participaram dezesseis discentes regularmente matriculados, com idade entre dezoito e vinte e três anos.

Para alcance do objetivo, primeiramente foram apresentados aos participantes uma explanação detalhada da pesquisa, com os respectivos objetivos, finalidade, base teórica e resultados esperados. Isso possibilitou que esses participantes pudessem compreender o trabalho a ser realizado. Foi apresentado ainda o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido), onde os estudantes concordariam ou não em participar da pesquisa. Neste documento foram apresentados, além de dados gerais da pesquisa e dos pesquisadores, os possíveis riscos relacionados à participação.

Num segundo momento houve a produção do sabonete orgânico, utilizando extrato alcoólico da casca da aroeira, base glicerínada orgânica para sabonete e óleo de coco. A extração foi realizada através do processo de destilação e foi adicionada juntamente com o óleo de coco à base glicerínada derretida em banho-maria. Logo após a secagem, os sabonetes foram cortados em pedaços de aproximadamente 100 gramas e embalados com papel biodegradável, sendo devidamente rotulados (Figuras 1, 2 e 3, respectivamente). A fabricação ocorreu no

Laboratório de Química do IFPI Uruçuí e seguiu os critérios do Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes (RDC nº 48/2013), sob supervisão do Professor de Química do referido Instituto.



Figura 1, 2 e 3: Processo de fabricação do sabonete de Aroeira. Os autores. 2019.

Os sabonetes tiveram em seus rótulos informações importantes e necessárias, como os ingredientes, data de fabricação, validade e recomendações gerais quanto ao uso. Os participantes foram orientados a testar previamente os produtos em pequenas áreas sensíveis do corpo (atrás da orelha ou no pulso), aguardar e observar atentamente por três dias, para a detecção de qualquer tipo de alergia ou reação indesejada no organismo. Após esse teste, o sabonete estaria liberado para o uso regular no restante do corpo.

Em um terceiro momento, após o uso do sabonete orgânico, foi aplicado um questionário semiestruturado contendo 10 questões. Através desse instrumento de análise foi possível conhecer o que os acadêmicos sabiam previamente informações importantes relacionadas a esses cosméticos orgânicos e também sobre o sabonete que testaram, quais as impressões gerais do mesmo, se mudariam algo nele, se substituiriam os convencionais pelo orgânico, além da temática das questões ambientais para saber a percepção dos discentes acerca dos impactos na natureza ocasionados pelos produtos convencionais e dos naturais.

Por fim, os resultados do questionário foram analisados e discutidos de modo descritivo através de gráficos, tabelas e diálogos com a bibliografia concernente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No questionamento acerca se os discentes tinham conhecimento que os cosméticos convencionais produzidos com substâncias derivadas do petróleo têm alto poder de poluição ambiental, 67% afirmaram que sim e 33 % afirmaram que não, conforme a figura 4. Ferreira *et al.* (2014) destacam que os impactos decorrentes da cadeia produtiva dos cosméticos para com

o meio ambiente são inúmeros, indo da extração até o descarte dos resíduos, sendo que o petróleo está se destacando cada vez mais como componente desses produtos.

É importante que se conheça os produtos e componentes relacionados com a poluição ambiental para que se busquem alternativas sustentáveis para os mesmos. Esta pesquisa demonstrou que mais da metade dos acadêmicos de Biologia participantes entrevistados têm consciência que o petróleo contido nos cosméticos convencionais tem alto poder de poluição ambiental. Pesquisas como a de Gomes (2009) e Isaac (2016) também corroboram que consumidores de cosméticos cada vez mais estão procurando produtos com componentes sustentáveis, tomando assim uma postura ambiental mais consciente e responsável.

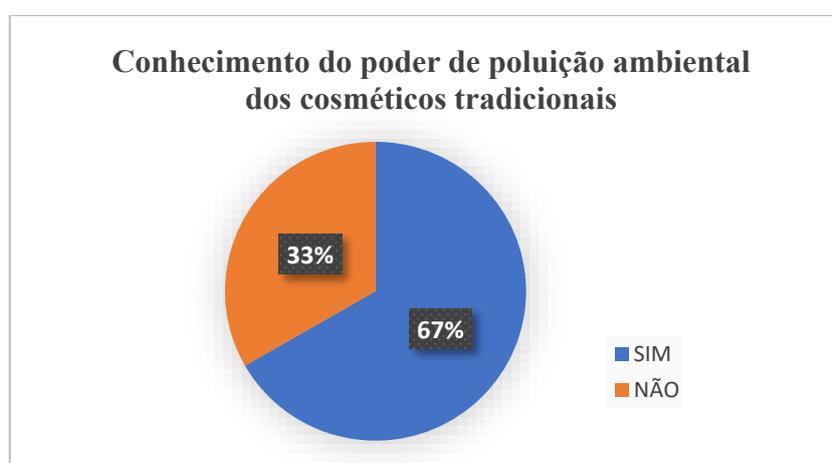


Figura 4. Conhecimento dos participantes com relação ao poder de poluição dos cosméticos tradicionais. Os autores. 2019.

Quando questionados sobre o conceito, exemplos, utilidades dos cosméticos orgânicos e outras informações que pudessem caracterizar-lhes, nenhum dos acadêmicos deu um conceito satisfatório e esperado. Porém as respostas trouxeram características que estão intimamente relacionadas a esses cosméticos, como por exemplo: “[...] são de origem vegetal e tem um custo mais alto que os outros cosméticos.” (Participante I, 18 anos); “não usam alguns conservantes que fazem mal a saúde” (Participante B, 19 anos); “São produtos obtidos a partir da matéria prima na forma natural.” (Participante C, 19 anos). Resultado similar foi observado na pesquisa de França (2018), onde somente 35,8% dos entrevistados souberam o significado de “cosmético orgânico”. Na pesquisa também foi observado uma confusão entre os termos “cosmético vegano”, “cosmético orgânico” e “cosmético natural”.

Em seguida indagou-se aos acadêmicos de Licenciatura em Biologia se eles acreditam que um cosmético orgânico possa ter a mesma eficácia que um cosmético convencional, sendo todos responderam que sim. Apesar de terem justificativas diversas, as mais citadas foram que esses cosméticos têm em sua composição matérias primas de origem vegetal e plantas

medicinais. A maioria dos acadêmicos chegou a citar inclusive que acreditam que os cosméticos orgânicos são mais eficientes que os convencionais, demonstrando assim certo conhecimento de consumo verde e sustentabilidade e uma tendência de mudança de padrão de consumo.

Algumas das respostas a esse questionamento específico foram, *ipsis litteris*: “*Sim, pois a eficiência na limpeza da pele é bem grande, chega a ser melhor que o cosmético convencional*” (Participante G, 18 anos); “*Sim, são mais eficientes pois tem maior concentração de nutrientes e menos compostos sintéticos*” (Participante K, 19 anos); “*Sim, por que os orgânicos não contém tantas substâncias que podem prejudicar a saúde*” (Participante N, 21). Isaac (2016) demonstra em sua pesquisa que cada vez mais as pessoas estão preocupadas com a eficácia dos cosméticos e por isso é importante conhecer o que os participantes acham dos produtos orgânicos. Neves *et al.* (2018) afirmam que as pessoas nem sempre acreditam na eficiência dos produtos orgânicos. Porém, os participantes desta pesquisa vão de encontro a esse dado, demonstrando que acreditam nessa eficiência orgânica, como foi constatado nas respostas obtidas.

Com relação especificamente ao sabonete orgânico de aroeira que os participantes usaram durante o período de uma semana, foram questionados quais os pontos positivos e negativos que os discentes podiam destacar após esse período de uso. Os resultados estão expressos na Tabela 1.

Aspecto	Citações
Efeito anti-inflamatório	4
Fragrância agradável	3
Pouca espuma	2
Redução da oleosidade	2
Textura suave	1
Alta durabilidade	1
Poder hidratante	1
Sem irritação no pós-barba	1

Tabela 1 Aspectos positivos do sabonete orgânico de aroeira citados pelos participantes. Os autores. 2019.

Como observado, os aspectos positivos mais citados foram o efeito anti-inflamatório e o odor agradável. Com relação ao efeito anti-inflamatório, os resultados obtidos corroboram com o de Santos *et al.* (2003), o qual demonstra a eficiência do uso da aroeira como planta

medicinal com extrato contra as inflamações e ação cicatrizante, como também com o de Goes *et al.* (2005), que confirma a ação anti-inflamatória obtida a partir do extrato aquoso da aroeira. No que concerne à fragrância agradável, esse é um aspecto que foi influenciado tanto pela própria característica físico-química da aroeira, quanto também pelo óleo de coco e pela glicerina, porém pode adquirir um viés mais subjetivo, podendo o odor ser ajustado utilizando-se óleos ou extratos essenciais orgânicos.

Dentre os aspectos negativos (tabela 2), o mais citado foi a fragrância desagradável, coincidindo com o segundo aspecto positivo mais citado e confirmando a subjetividade já abordada. Como comentado anteriormente, a fragrância foi influenciada pela aroeira, pelo óleo de coco e pela glicerina e pode ser ajustada utilizando óleos ou extratos essenciais, mediante mais pesquisas de opinião com amostras maiores, estatisticamente mais representativas e mais diversificadas.

Aspecto	Citações
Fragrância desagradável	4
Pouca espuma	2
Aspecto pegajoso	1

Tabela 2 Aspectos negativos do sabonete orgânico de aroeira citados pelos participantes. Os autores. 2019.

Indagou-se ainda no questionário se os participantes tiveram alergia, sensibilização ou algum outro problema relacionado ao uso do sabonete orgânico de aroeira. Destes, 93% não relataram nenhum problema, enquanto 7% relataram que sim, que tiveram sensibilidade e vermelhidão na pele (Figura 5). Isaac (2016) diz que produtos livres de ingredientes alergênicos como parabenos, óleos minerais, fragrâncias artificiais, corantes entre outros ingredientes tem maior aceitabilidade. Em relação à alergia, os resultados coadunam com os verificados pela Associação Brasileira de Alergia e Imunologia (ASBAI), que apontam que as alergias afetam cerca de 30% da população brasileira (ASBAI, 2019). Os cosméticos orgânicos são mais receptivos para a pele, causando menos alergias e irritabilidades (HIGUCHI; DIAS, 2012), tendo assim uma maior aceitação quando considerado o Consumo Verde.



Figura 5. Porcentagem de participantes que tiveram alergia, sensibilização ou outro problema relacionado ao sabonete orgânico de aroeira. Os autores. 2019.

Como um dos objetivos da pesquisa foi desenvolver uma alternativa para o cosmético convencional, mais especificamente o sabonete, decidiu-se questionar os participantes se eles substituiriam seus sabonetes tradicionais pelo sabonete orgânico de aroeira. 75% afirmaram que sim, enquanto 25% deles disseram que não substituiriam (Figura 6). Alguns participantes relataram que substituiriam, porém por um tempo limitado, de modo a intercalar o uso entre o sabonete orgânico e o sabonete convencional. Os participantes que afirmaram substituir de forma permanente apontaram como fatores decisivos para tal o fato dele ser orgânico, sustentável, de base vegetal, ter ação anti-inflamatória e ter propriedade hidratante. Essa é uma tendência verificada por autores que estudam as novas tendências consumistas que consideram o consumo verde (PEATTIE; CHARTER, 2005).

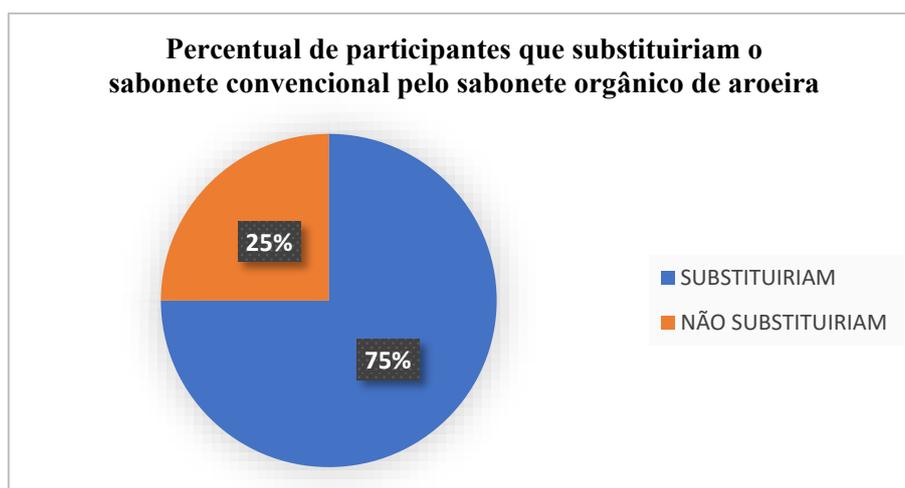


Figura 6: Percentual de participantes que afirmaram substituir o sabonete convencional pelo sabonete orgânico de aroeira. Os autores. 2019.

Os acadêmicos ainda foram indagados acerca de outras características que eles observaram no sabonete orgânico de aroeira para além dos já mencionados, sendo que os principais citados foram: poder de limpeza (26%), espuma macia e cremosa (21%), superfície

lisa e brilhante (16%), perfume desagradável (14%), poder de hidratação (9%) e poder anti-inflamatório (12,5%), como disposto na figura 7.

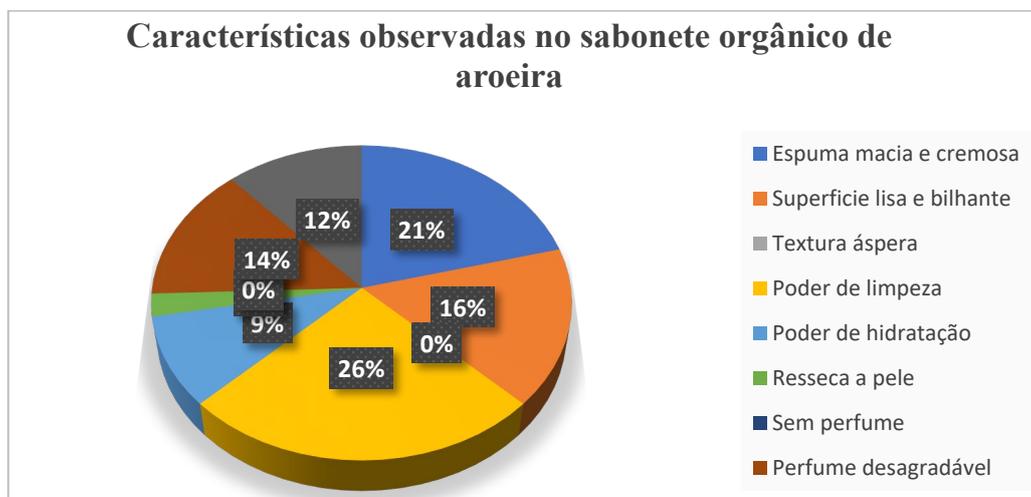


Figura 7. Características observadas pelos participantes da pesquisa no sabonete orgânico de aroeira. Os autores. 2019.

Por fim, foi questionado se os participantes indicariam o sabonete orgânico para a utilização de outrem. 93% dos participantes afirmaram que sim, enquanto 7% afirmaram que não. Cerqueira *et al.* (2013) e Isaac (2016) apontam a influência da indicação de conhecidos na decisão de compra de cosméticos, que é o terceiro maior fator de influência na decisão de aquisição desse produto. O fato de a maioria indicar o uso do sabonete orgânico de aroeira tem implicações positivas, sendo ecologicamente mais sustentável e com propriedades fitoterápicas úteis ao consumidor.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização desta pesquisa permitiu concluir que os discentes entrevistados tem um conhecimento satisfatório sobre o poder de poluição gerado pelos cosméticos convencionais, bem como possuem uma preocupação com os impactos negativos no meio ambiente. Por outro lado, a noção sobre o conceito, utilidades e exemplos dos cosméticos orgânicos não são devidamente conhecidos pelos participantes, que mesmo assim afirmam que eles têm a mesma eficácia dos cosméticos convencionais e até mesmo superior.

O sabonete orgânico de aroeira confeccionado mostrou-se eficiente para ser utilizado, uma vez que a maioria dos participantes afirmou substituir o seu sabonete convencional pelo orgânico. Poucas pessoas tiveram algum tipo de sensibilização. O sabonete orgânico de Aroeira teve grande aceitabilidade, uma vez que possui características importantes para que essa substituição seja realizada, como a presença de espuma, poder de hidratação, limpeza e capacidade anti-inflamatória. A maioria dos participantes apontou ainda que indicariam o

produto para mais pessoas, corroborando assim para o consumo verde e o poder fitoterápico do sabonete.

Portanto, apesar de não conhecerem sobre os cosméticos orgânicos, os discentes entrevistados são conscientes sobre os problemas ambientais agravados pela indústria cosmética e também que se posicionam criticamente em relação a tal. Sugere-se que trabalhos posteriores possam aprimorar o sabonete orgânico de aroeira para que consiga atingir o grau de satisfação máximo, melhorando características indesejadas como o odor (fragrância) e diminuição da irritabilidade, sensibilidade e alergias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOLOGIA (ASBAI). **Documento da associação brasileira de alergia e imunologia (ASBAI) para atenção primária e secundária à saúde**. Disponível em: <https://asbai.org.br/wp-content/uploads/2015/12/DOCUMENTO-ASBAI-SUS-REGIONAIS-.pdf>. Acesso em 14 jul 2021.

CASSAROTTI, A. **Malefícios decorrentes ao uso de produtos contendo parabenos**. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Estética e Cosmética) - Universidade Tuiuti do Paraná. Orientadora: Neiva Cristina Lubi. 2012. Disponível em: <https://tcconline.utp.br/maleficios-decorrentes-ao-uso-de-produtos-contendo-parabenos/>. Acesso em 15 dez 2020.

CERQUEIRA, A. C.; OLIVEIRA, R.C.R.; HONORIO, J. B.; BERGAMO, F. V. M. Comportamento do consumidor de cosméticos: um estudo exploratório. **Revista Formadores: Vivências e Estudos**. Cachoeira-BA, v. 6, n. 1, p 128-157, Nov. 2013 Disponível em: <https://seer-adventista.com.br/ojs3/index.php/formadores/article/view/292>. Acesso em 15 fev 2021.

FERREIRA, C. R. L.; SILVA, D.C.; LIMA, E. M.; MEDEIROS, K. B.; OLIVEIRA, K. B.; SILVA, L. M. B.; PRADO, M. R. M.; SOUZA, J. C. **Análise da participação do petróleo e seus derivados na composição de cosméticos e os riscos à saúde humana e ao meio ambiente: reflexão dos estudantes e professores do IFRN**. In: XI Congresso Nacional do Meio Ambiente de Poços de Caldas, 6º ed, 2014 Poços de Caldas, Anais, v.6, n.1.

FRANÇA, C. C. V. **A percepção de produtores de cosméticos verdes e consumidores sobre a certificação natural, orgânica, e vegana no contexto da nova Economia Institucional**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade, Escola de Artes, Ciências, e Humanidades, Universidade de São Paulo. 2018. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/100/100136/tde-03012019-200633/publico/Camilla\\_Custoiias\\_Vila\\_Franca\\_Mestrado\\_PPGS.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/100/100136/tde-03012019-200633/publico/Camilla_Custoiias_Vila_Franca_Mestrado_PPGS.pdf). Acesso em 20 jan 2021.

GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. **Cosméticos: a química da beleza**. 2011. Disponível em <http://fisiosale.com.br/assets/9no%C3%A7%C3%B5es-de-cosmetologia-2210.pdf>. Acesso em 20 out 2020.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. *Schinus terebinthifolius Raddi*. **Revista Fitos (ALANAC)**, v. 6, p. 43-56, 2011. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/158>. Acesso em 10 mar 2021.

GOES, A. C. et al. Histologic analysis of colonic anastomotic healing, in rats, under the action of 10% Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* fr. all.) enema. **Acta Cir. Bras.**, v. 20, n. 2, p. 144-151, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502005000200008>

GOMES, A. N. O novo consumidor de produtos naturais: Consumindo conceitos muito mais que produtos. **ESPM – Central de Cases**. 2009. Disponível em: [https://pesquisa.espm.br/wp-content/uploads/2020/08/o\\_novo\\_consumidor\\_de\\_produtos\\_naturais.pdf](https://pesquisa.espm.br/wp-content/uploads/2020/08/o_novo_consumidor_de_produtos_naturais.pdf). Acesso em 30/11/2019.

GONÇALVES, P. **A cultura do supérfluo: Lixo e desperdício na sociedade de consumo**. 1ª edição. Garamond, 2011.

HIGUCHI, C. T. O uso racional de cosméticos e o seu descarte consciente e apelo do uso por produtos de origens orgânica e natural. **Revista Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**. v. 8, n.3. 2013. p. 138-142. Disponível em: [http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/InterfacEHS/?page\\_id=1417](http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/InterfacEHS/?page_id=1417). Acesso em 10 mar 2021.

HIGUCHI, C. T.; DIAS, L. C. V. Regulamentação de cosméticos orgânicos no Brasil: Apelo Sustentável a pele. **Revista Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**. v.7, n.1, 2012. p.82-83. Disponível em: [http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/InterfacEHS/wp-content/uploads/2013/08/1\\_RESENHAS\\_vol7n1.pdf](http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/InterfacEHS/wp-content/uploads/2013/08/1_RESENHAS_vol7n1.pdf). Acesso em 10 jun 2021.

ISAAC, G. E. A. **O desenvolvimento sustentável do setor cosmético e o comportamento do consumidor frente aos cosméticos sustentáveis**. 2016. Dissertação (Mestrado em Educação, Ambiente e Sociedade) – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino, São João da Boa Vista. 2016. Disponível em: [https://www.fae.br/mestrado/action\\_busca.php?op=ano&word=2016](https://www.fae.br/mestrado/action_busca.php?op=ano&word=2016). Acesso em 20 jan 2021.

LORENZI, H. E MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil**. 2ª edição. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 2008.

MIGUEL, L.M. **A biodiversidade na indústria dos cosméticos: contexto internacional e mercado brasileiro**. 2012. Tese (Doutorado em Geografia Humana) - Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013. doi:10.11606/T.8.2013.tde-12062013-112427. Acesso em: 10 fev 2021.

NEVES, D.F.G; PLÍNIO, E.B.G, ARANTES, N.G; CAMPOS, A.G.C; BACCOLI, B.C. **Cosméticos Industrializados x orgânicos: avaliando o conhecimento dos profissionais em estética**. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) Unincor. 2018. Disponível em: <http://www.repositorio.unincor.br/book/498>. Acesso em 20 fev 2021.

PEATTIE, K.; CHARTER, M. **Marketing verde**. In M. J. Baker (Org.), Administração de Marketing: conceitos revistos e atualizados. pp. 517-537. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier. 2005.

ROMERO, V.; KHURY, E.; AIELLO, L. M.; FOGLIO, M. A.; LEONARDI, G. R. Diferenças entre cosméticos orgânicos e naturais: literatura esclarecedora para prescritores. **Surg Cosmet Dermatol**, Rio de Janeiro, v.10, n.3, p.93-188, 2018. DOI: <http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20181031087>.

SANTOS, O.J. Avaliação do extrato de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira** - Vol 21 (Suplemento 2) 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502006000800007>

# CAPÍTULO 10

## DISTÚRBIOS NO CICLO SONO-VIGÍLIA E SUAS CONSEQUÊNCIAS NA DOENÇA DE ALZHEIMER

DOI: 10.47402/ed.ep.c20217249585

**Gabriel José Guedes Quirino**, Curso de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará

**Dara da Silva Mesquita**, Mestrado de Medicina Translacional, Universidade Federal do Ceará

**José Eduardo Ribeiro Honório Júnior**, Curso de Biomedicina, Coordenador do Laboratório de Neurociência Translacional, Centro Universitário Christus

**Gislei Frota Aragão**, Curso de Medicina, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Ceará

### RESUMO

**Introdução:** o sono acompanha a história evolutiva da espécie humana, e várias áreas do cérebro estão envolvidas com o seu funcionamento. A sua desregulação pode estar relacionada, direta ou indiretamente, com várias doenças do sistema nervoso central, entre elas, podemos citar a doença de Alzheimer. **Objetivos:** investigar, por meio da literatura, se a privação do sono pode vir a ser um fator de risco para o desenvolvimento da doença de Alzheimer. **Metodologia:** trata-se de uma revisão de literatura dos últimos cinco anos nos bancos de dados: MEDLINE, LILACS e Science Direct, utilizando as seguintes palavras-chave: privação de sono, doenças neurodegenerativas e fator de risco. **Resultados e Discussão:** o ciclo de sono-vigília apresenta as áreas cerebrais envolvidas com o sono, entre elas, podemos citar o hipotálamo e a área do tronco encefálico, além de áreas do córtex, além de vários neurotransmissores como o do sistema GABAérgico, dopaminérgico, noradrenérgico, entre outros. O núcleo supraquiasmático é a principal área, sendo denominado relógio do cérebro, podendo regular o sono devido às suas ligações com a retina e a glândula pineal, principal produtora de melatonina. Além disso, sabemos que a privação do sono pode ajudar no desenvolvimento de demências e outros transtornos mentais, como a doença de Alzheimer, que mostra uma alta relação com distúrbios do ciclo de sono e vigília. Dados neuropatológicos de pacientes com Alzheimer mostram que as placas senis e massas neurofibrilares são localizadas nas amígdalas cerebelares e no hipocampo, área relacionadas com o ciclo do sono e vigília. Alguns autores mostram que, durante o sono, há duas vezes mais depuração de metabólitos tóxicos do que no estado de vigília, indicando que pacientes que tenham tendência para a doença de Alzheimer podem acumular mais placas senis quando apresentam problemas de insônia. **Conclusão:** os resultados mostram que alterações no ciclo de sono-vigília podem levar a acúmulo de metabólitos tóxicos, causando o aumento de várias proteínas, que podem aumentar as chances de desenvolver demência e transtornos mentais com a doença de Alzheimer.

**PALAVRAS-CHAVE:** Doença de Alzheimer. Ciclo de Sono e Vigília. Fator de Risco.

### 1. INTRODUÇÃO

A história evolutiva da espécie humana é acompanhada da evolução do sono. O sono é um mecanismo de regulação do estado de repouso e vigília dos humanos. Possui função

restaurativa, de conservação de energia e de proteção. Esse mecanismo é regulado mediante a secreção de substâncias de caráter sinalizador como os hormônios melatonina e cortisol, principalmente pela ação do hipotálamo, que dita como nosso corpo deve reagir a estímulos externos como a luz, no que diz respeito ao estado de alerta e de repouso. A ação sinalizadora é evidenciada por fenômenos anatômicos, celulares e químicos, diferenciando-se entre si de acordo com as fases do sono. Sabendo disso, é possível imaginar os efeitos danosos causados pela privação de sono, que se entendem tanto pela privação total de sono e eventos de interrupção de sono contínuo, como por eventos de restrição crônica de sono, como a insônia (NEVES et al., 2013; NEVES; MACEDO; GOMES, 2017; TUFIK, 2008).

A doença de Alzheimer (DA) é a desordem neurodegenerativa mais estudada em associação com efeitos causados pela privação do sono e é uma das principais formas de demência. A maioria dos casos de DA está associada à deposição do peptídeo  $\beta$ -amiloide, alterações em genes específicos, como *presenilina1* (PS1) e *presenilina2* (PS2). Estudos mostram que os distúrbios de sono que perturbam o ciclo circadiano aumentam a deposição do peptídeo  $\beta$ -amiloide e a fosforilação aumentada da proteína tau, que é responsável pela estabilidade do citoesqueleto de células nervosas (DI MECO; JOSHI; PRATICÒ, 2014; LAURETTI et al., 2017).

Dada a importância do sono para a manutenção de funções necessárias às atividades dos indivíduos, torna-se fundamental compreender os possíveis efeitos negativos causados pela sua privação. Nesse ponto, os artigos estudados por essa revisão narrativa procuram por quais mecanismos a privação, a fragmentação e a restrição crônica de sono afetam o sistema nervoso de forma degenerativa, causando padrões distintos de alteração da conectividade funcional de certas áreas cerebrais (TAGLIAZUCCHI; VAN SOMEREN, 2017), diminuição da função cognitiva (BANKS; DINGES, 2007), deficiência na consolidação de dados contextuais de memória (GRAVES et al., 2003), déficits de aprendizagem e memória (HAIRSTON et al., 2005) e o acúmulo de peptídeo  $\beta$ -amiloide e proteína tau fosforilada, que têm relação direta com a doença de Alzheimer.

Estudos envolvendo doenças neurodegenerativas são necessários, dado ao recorrente número de casos no mundo que tem crescido ano a ano. Assim, o presente estudo busca investigar, na literatura, se a privação do sono pode vir a ser um fator de risco para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, especialmente, a doença de Alzheimer.

## 2. METODOLOGIA

O trabalho consiste em uma revisão narrativa da literatura sobre os riscos que a privação do sono traz para o desencadeamento de doenças neurológicas. Por meio da análise da literatura publicada, o autor irá determinar um quadro teórico e fará a estrutura conceitual que dará a sustentação ao desenvolvimento da pesquisa (SOUSA et al., 2018). Para isso, foi realizada uma busca de artigos científicos nas bases de dados *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e *ScienceDirect* usando as palavras-chave “Sleep Deprivation” and “Neurodegenerative Disorders” and “Risk Factor”. Os critérios de inclusão para os artigos foram artigos originais, completos e atuais (publicados nos últimos 10 anos), nos idiomas inglês, com a temática associada ao objetivo da revisão. Artigos de revisão, fora da delimitação temporal da pesquisa ou em outros idiomas foram excluídos. Durante a busca, foram encontrados 161 artigos, para os quais 13 foram selecionados por se encaixarem nos critérios específicos de seleção.

## 3. RESULTADOS

### 3.1 CONTROLE SONO/VIGÍLIA

Os primeiros estudos, com sono, começaram com neurologista austríaco Mauthner, em 1890, que tentou localizar o que chamou de “centro do sono” e supôs que ele se encontrava na substância cinzenta periventricular (PEREIRA, 1970), também chamada de *Locus ceruleus*.

Atualmente, sabemos que o sono depende de circuitos cerebrais complexos e múltiplos, vinculados a estruturas e neurotransmissores diversos. O sono e a vigília são sistemas interconectados, mas com características próprias. Assim, são encontrados um sistema de despertar/vigília e outro de adormecer/sono, que se alternam periodicamente, com mínima transição em condições normais (GOMES; QUINBONES; ENGELHARDT, 2010).

Para determinar as principais áreas cerebrais e principais circuitos envolvidos com o sono, foram feitos diversos estudos em modelos animais ao longo do tempo. Atualmente, o hipotálamo é considerado o centro cerebral relacionado com o estado de sono/vigília. O hipotálamo pode ser dividido em posterior, anterior e lateral. No hipotálamo anterior, podemos encontrar o núcleo pré-ópticoventrolateral (com neurônios GABAérgicos) e o núcleo supraquiasmático (que coordena ritmos circadianos por todo o cérebro). No hipotálamo posterior, podemos observar o núcleo tuberomamilar (com neurônios histaminérgicos). E no hipotálamo lateral, encontramos o sistema orexina/hipocretina. Essas estruturas associadas a

outras no tronco encefálico (Núcleo da rafe – neurônios serotoninérgicos; *Locuscoeruleus* – Neurônios Noradrenérgicos; Núcleo basal de Meynert do prosencéfalo basal – com projeções para o córtex, está relacionado à doença de Alzheimer; Substância Cinzenta Periaquedutal Ventral – Dopaminérgicos e Sistema Ativador Reticular Ascendente – SARA, fibras ascendentes que se ramificam para o tálamo e depois para o córtex) são as principais estruturas de formação do ciclo vigília/sono.(BRANDÃO, 2019; ESPAÑA; SCAMMELL, 2011; GOMES; QUINBONES; ENGELHARDT, 2010; HIGGINS; GEORGE, 2010; HOOD; AMIR, 2017). De acordo com Higgins e George (2010), dentro das áreas relacionadas, a principal área denominada de relógio cerebral é o núcleo supraquiasmático. O núcleo supraquiasmático é sincronizado por sinais da retina, ativados pela luz solar, além da melatonina, que é secretada pela glândula pineal, durante o ciclo de escuridão (ALÓE; AZEVEDO; HASAN, 2005; NEVES et al., 2013).

Em 1953, Nathaniel Kleitman e Eugene Aserinsky, examinando os registros eletroencefalográficos de indivíduos saudáveis dormindo, descobriram que o sono compreende diferentes estágios que se repetem em padrões durante toda a noite. Eles classificaram em três estágios de consciência: vigília, sono de movimento ocular não rápido (não REM ou NREM) e sono de movimento ocular rápido (REM - *RapidEyesMovement*) (ABBOTT, 2016; ALÓE; AZEVEDO; HASAN, 2005; HIGGINS; GEORGE, 2010). O centro de controle e estímulo do sono não REM está ligado à ativação de neurônios da via GABAérgica de natureza inibitória, que se encontram no núcleo pré-óptico ventrolateral do hipotálamo anterior. Os neurônios dessa via bloqueiam as regiões responsáveis pela ativação da vigília, como o sistema reticular ativador ascendente e o prosencéfalo basal. Já o desenvolvimento do sono paradoxal ou REM ocorre nos núcleos pontinos na ponte do tronco encefálico (CHOKROVERTY, 2010). O sono REM é assim denominado devido ao padrão de comportamento cerebral comum ao de vigília, caracterizado por traçados elétricos do EEG (EletroEncefáloGrafia) dessincronizados com ondas de alta frequência e baixa amplitude mesmo sendo o estado de sono mais profundo, com intenso relaxamento muscular (ANDERSON; BRADLEY, 2013; GRAVES; PACK; ABEL, 2001; MALLIS; BANKS; DINGES, 2009; TUFIK, 2008).

Em se tratando dos principais neurotransmissores envolvidos com o sono, têm-se, como exemplo, a dopamina, a noradrenalina e a serotonina liberadas por neurônios monoaminérgicos localizados no *Locusceruleus*, acetilcolina liberada em altas concentrações, em neurônios colinérgicos mesopontinos no tálamo e no córtex durante sua ativação na vigília, histamina liberada em neurônios do hipotálamo posterior que se projetam ao córtex e recebem projeções

do tronco encefálico e mesencéfalo. O papel da histamina na ativação da vigília vem sendo revelado pela ação farmacológica dos anti-histamínicos que conseguem ultrapassar a BHE e induzem a sonolência. Além desses, também há as orexinas ou hipocretinas, que são neuropeptídios sintetizados na área perifornical da região tuberal do hipotálamo e são liberados pelos neurônios hipocretinérgicos que se projetam para o *Locus ceruleus* e o córtex de forma difusa (TUFIK, 2008). A respeito do surgimento da sonolência, sabe-se que está ligado ao fator homeostático que ocorre após grandes períodos de vigília, ou seja, o acúmulo de adenosina que funciona como neurotransmissor no SNC e atua induzindo o sono e reduzindo ansiedade, atividade motora e frequência respiratória (GOMES; QUINBONES; ENGELHARDT, 2010).

### 3.2 SONO E DOENÇA DE ALZHEIMER

De acordo com os nossos critérios de inclusão e descritores, encontramos cinco trabalhos clínicos (tab. 01) e oito pré-clínicos, relacionando o sono com a doença de Alzheimer (tab. 02) que serão discutidos posteriormente.

Relacionando os transtornos comportamentais do sono e as doenças neurodegenerativas, a doença de Alzheimer (DA) é a que mais mostra relação com o sistema de sono e vigília. Os pacientes com a doença de Alzheimer apresentam distúrbios no ciclo circadiano, como diminuição da eficiência do sono, interrupção do sono-vigília, principalmente no início da doença, além de alterações do ciclo de termorregulação e exacerbações de comprometimento cognitivo e confusões durante a noite (CAMARGOS et al., 2011; CRONIN et al., 2017; HOOD; AMIR, 2017; QUINHONES; GOMES, 2011; SCORALICK et al., 2015; SILVA et al., 2017); além de outros sinais bioquímicos com a oligomerização de peptídeo  $\beta$ -amiloide e a diminuição da atividade colinérgica no córtex, no hipocampo e no núcleo basal de Meynert.(DE FALCO et al., 2016).

Sabe-se que a privação do sono, seja ela fragmentação do sono, insônia, interrupção do sono contínuo, privação exclusiva do sono REM e privação total pode acarretar diversas consequências relacionadas com a demência e a dificuldade cognitivas (MALHOTRA, 2018; RAGGI; FERRI, 2010). Um trabalho realizado no Estudo da Memória da Saúde da Mulher (Women's Health InitiativeMemoryStudy -WHIMS) com mais de 744 mulheres (ente 65 a 80 anos) por 7 anos mostrou um aumento de risco para declínio cognitivo e demência para mulheres que apresentavam períodos longos de sono ( $> 8h/dia$ ) e curtos de sono ( $<6h/dia$ ) quando comparava com as mulheres que dormiam apenas 7 horas/dia (CHEN et al., 2016). Outro estudo mostrou que pacientes com epilepsia apresentavam distúrbios do sono, além do

desenvolvimento de depressão e ansiedade nesses pacientes. Neste estudo, a má qualidade do sono, sonolência diurna excessiva e insônia foram, significativamente, associados à epilepsia (IM et al., 2016).

A doença de Alzheimer pode causar quadros psicóticos como delírios e alucinações, depressão, condutas repetitivas e perturbações no ciclo de sono-vigília (SCORALICK et al., 2015). Dados neuropatológicos de pacientes com Alzheimer mostram que as principais áreas atingidas pelas placas senis (proteínas  $\beta$ -amiloides) e massas neurofibrilares (proteínas *Tau*) são localizadas nas amígdalas cerebelares, no hipocampo e no córtex entorrinal do lóbulo temporal (DE FALCO et al., 2016).

Durante o estado de sono, tanto em humanos, como em ratos, há uma depuração de metabólitos tóxicos acumulada no líquido cefalorraquidiano, duas vezes mais rápido do que no estado de vigília (BENEDICT et al., 2015). DI Mecco e colaboradores (2014) relatam que a privação do sono aumenta a deposição de placas de peptídeos  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A) no córtex cerebral que se acumulam e sua concentração diminui no líquido cerebrospinal, o que favorece a neurodegeneração típica de Alzheimer (DI MECO; JOSHI; PRATICÒ, 2014). OOMS e colaboradores (2014) observaram que homens saudáveis que sofriam com a privação de sono apresentavam uma diminuição das  $\beta$ -amiloides 42 ( $\beta$ A-42) no líquido cefalorraquidiano após 10 horas da privação. WEI e colaboradores (2017) mostraram que homens e mulheres saudáveis que sofrem de privação de sono apresentam um aumento das proteínas  $\beta$ -amiloides 40 ( $\beta$ A-40), mas não foi encontrada alteração da fração  $\beta$ A 42 (**tabela 1**). Trabalhos de Zhang e colaboradores (2019), utilizando camundongos com DA A $\beta$ PP<sup>swe</sup>/PS1 <sup>$\Delta$ E9</sup>, mostraram deposição de  $\beta$ A e proteínas *Tau* fosforilada tanto no córtex como no hipocampo desses animais levando a um declínio da memória cognitiva e aprendizagem (**tabela 02**). A deposição dos peptídeos  $\beta$ A faz que ocorra a hiperfosforilação da proteína *Tau*, uma proteína importante para a estabilização dos microtúbulos dos neurônios. Essa proteína hiperfosforilada forma emaranhados fibrilares e acumula-se no interior dos neurônios, do axônio em direção ao corpo celular, resultando em disfunção neuronal e morte celular (DI MECO; JOSHI; PRATICÒ, 2014).

Em 2013, Rothman e colaboradores, estudando a privação de sono em camundongos transgênicos para doença de Alzheimer (3xTg-DA), observaram que o sangue desses animais apresentou um aumento na corticosterona em até quatro vezes, além de elevação na concentração das proteínas p*Tau* e  $\beta$ -amiloides. Outros trabalhos relataram que pessoas que vivem com DA, geralmente, apresentam níveis sanguíneos mais altos do hormônio do estresse,

o cortisol, quando comparados a pessoas saudáveis (CSERNANSKY et al., 2006; RASMUSON et al., 2001), sugerindo uma desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenocortical (HPA) na doença de Alzheimer (SILVERMAN et al., 2015). Qiu e colaboradores (2016) mostraram que a privação de sono poderia prejudicar a memória e a aprendizagem de animais  $A\beta$ PP<sup>swE</sup>/PS1<sup>ΔE9</sup>. Nessa mesma linhagem de camundongos, além da deposição das placas  $\beta$ -amiloide e proteína *Tau* no córtex e hipocampo, foram observadas alterações no EEG e no ciclo de sono-vigília nos diferentes estágios da doença de Alzheimer; além de observarem aumento nas placas senis, aumento na proteína pTau, disfunções mitocôndrias e apoptose neural (ZHANG et al., 2019)

Tabuchi e colaboradores (2015), estudando privação de sono em *Drosophila*, observaram que alterações na excitabilidade neural está sujeita aos efeitos da perda de sono na patogênese da doença de Alzheimer. O acúmulo de  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) leva a um sono reduzido e fragmentado, enquanto a privação crônica do sono aumenta a carga de  $A\beta$ . Os mesmos dados foram confirmados por Chen e colaboradores (2017) com ratos Sprague-Dawley, quando estudaram como a privação de sono acelerava o progresso da doença de Alzheimer. Além do aumento da corticosterona e das frações das proteínas  $\beta$ -amiloide e seus precursores, os autores observaram um aumento na latência de escape, do teste Labirinto Aquático de Morris, nos animais que tiveram privação de sono.

## CONCLUSÃO

Os resultados mostram que alterações no ciclo de sono e vigília podem levar a várias alterações bioquímicas, por causar o acúmulo de metabólitos no líquido cerebrospinal e consequentemente no acúmulo de proteínas  $\beta$ -amiloides e *Tau* e de corticosterona, o que aumentam as chances de desenvolver demências e outros transtornos como a doença de Alzheimer. Apesar de os resultados mostrarem uma associação entre a doença Alzheimer com distúrbios no ciclo de sono e vigília, há necessidade de mais pesquisas, estudando a metabolização das proteínas  $\beta$ -amiloides e *Tau* e sua relação com as áreas do ciclo de vigília e sono.

**Tabela 01-Estudos clínicos**

Autor	Espécie/Sexo	Objetivo	Método de Avaliação	Testes bioquímicos/imunológicos	Resultado
(OOMS et al., 2014)	Humanos/Homens	Observar o efeito de uma noite de total privação de sono na concentração de amiloides no LCR.	Monitoramento de pressão arterial Avaliação do pulso Medida da temperatura corporal Registro polissonográfico.	-	Baixos níveis de $\beta$ -amilóide 42 no LCR, após 10 horas de privação do sono.
(WEI et al., 2017)	Humanos/Homens e Mulheres	Avaliar distúrbios no metabolismo cerebral de $\beta$ -amiloides causados pela privação de sono.	Vigília total de 24 horas (8am – 8am)	ELISA para medir concentração de marcadores importantes Uso de kits WST-1 e TBA para determinar SOD e MDA.	PS aumentou a concentração plasmática da fração $\beta$ -amilóide 40, mas não a fração 42. Aumento de $\beta$ -amilóide total proporcional ao tempo de vigília. PS diminuiu a concentração plasmática dos receptores sLRP1 e sRAGE PS diminuiu os níveis séricos de SOD (Superóxido Dismutase) e aumentou o MDA (Malonaldeído).
(GAUDREAU LT et al., 2013)	Humanos/Homens e Mulheres	Compreender o papel do distúrbio comportamental do sono REM na disfunção cerebral decorrente do Parkinson, particularmente em regiões cerebrais posteriores.	Análise em laboratório de sono durante dois dias e uma noite. Exames neurológicos para avaliação de RBD's. Realização de Potenciais Relacionados a Eventos nos pacientes.	-	Grupo controle teve escores maiores que o grupo PD-RBD no Exame MMSE. Sem diferenças entre variáveis clínicas dos grupos com Parkinson

					(DP-RBD e DP-NRBD). NRBD apresentou menos alterações cognitivas que o RBD. ERP em detalhes.
(IM et al., 2016)	Humanos/Homens e Mulheres	Comparar a ocorrência de distúrbios do sono (insônia, má qualidade, sonolência diurna) entre pacientes com epilepsia e pacientes saudáveis e determinar os fatores associados aos distúrbios.	Questionários sobre informações demográficas e condições clínicas (ESS, PSQI, Escalas de depressão e ansiedade, medicamentos para induzir sono, insuficiência subjetiva de sono, uso de álcool e tabaco etc).	-	Distúrbios de sono mais presentes no grupo com epilepsia. Má qualidade foi o principal distúrbio. Maior ocorrência de depressão e de ansiedade no grupo com epilepsia, bem como menor uso de álcool e tabaco. OR mostrou relação significativa entre distúrbios do sono (sobretudo má qualidade) e epilepsia.
(CHEN et al., 2016)	Humanos/Mulheres idosas	Investigar a relação entre privação do sono (sono insuficiente), declínio cognitivo leve e demência em longo prazo (estudo longitudinal).	Autorrelato subjetivo sobre as horas de sono em uma noite típica de sono. Declínio significativo definido na função cognitiva global avaliado pelo modified mini-mental state exam (3MS); incidência de CCL ou provável demência avaliados pelo WHIMS de 4 fases.	-	Maior proporção de sono de curta duração ( $\leq 6h$ ). Nenhuma relação entre terapia hormonal e duração do sono. Houve em média 800 indivíduos com declínio cognitivo leve e 550 novos casos de DCL e demência durante uma média de 7,5 anos.

Tabela 1- Panorama geral dos estudos clínicos.

**Tabela 02-Estudos pré-clínicos**

Autor	Espécie/Sexo	Objetivo	Teste de comportamento	Testes bioquímicos/imunológicos	Resultado
(ROTHMAN et al., 2013)	Camundongos 3xTg/Machos e Fêmeas	Verificar a interferência da privação de sono no metabolismo de fatores relacionados ao Alzheimer	Campo Aberto Labirinto Aquático de Morris Medo Condicionado	Concentração Plasmática de Corticosterona Análise de tecido por Immunoblot	Corticosterona 3-4x maior nos camundongos privados de sono pTau e $\beta$ -amiloide mais elevados nos grupos privados de sono.
(QIU et al., 2016)	Camundongos selvagens e transgênicos $A\beta$ PP <sup>swe</sup> /PS1 <sup><math>\Delta</math>E9</sup> /Machos e Fêmeas	Avaliar de que forma a privação de sono piora problemas de memória, aprendizagem e aumenta o risco de Alzheimer	Avaliação da capacidade de memória e de aprendizagem. Interação social.	Imunocoloração, Immunoblotting, Imunohistoquímica, Western blotting, ELISA no hipocampo para verificar a concentração de peptídeo $\beta$ -amiloide, método de TUNEL (dUTPnickendlabeling).	PS prejudica capacidades de memória e de aprendizagem. Aumento do depósito de placas senis nos ratos PS. Aumento de pTaufosforilada em ratos PS. PS causa disfunção mitocondrial e apoptose neuronal.
(LONG et al., 2010)	Camundongos selvagens WT e transgênicos $A\beta$ PP <sup>swe</sup> /PS1 <sup><math>\Delta</math>E9</sup> /Machos e Fêmeas	Avaliar de que forma a privação de sono piora problemas de memória, aprendizagem e aumenta o risco de Alzheimer	Avaliação da capacidade de memória e aprendizagem. Interação social.	Imunocoloração, Immunoblotting, Imunohistoquímica, Western blotting, ELISA no hipocampo para verificar a concentração de peptídeo $\beta$ -amiloide, método de TUNEL (dUTPnickendlabeling).	PS prejudica capacidades de memória e aprendizagem. Aumento do depósito de placas senis nos ratos PS. Aumento de pTaufosforilada em ratos PS. PS causa disfunção mitocondrial e apoptose neuronal.
(CASSOL-JR et al., 2010)	Moscas do gênero <i>Drosophila</i> /Sem sexo definido	Observar possíveis defeitos na memória de curto prazo, após privação de sono em	Teste de Fototaxia (IF) Índice de Sensibilidad e a Quinina (ISQ) Teste de Escalada	Imunohistoquímica RT-PCR	Capacidade de escalar afetada pela progressão do Parkinson. Baixo desempenho de aprendizagem e memória. Diminuição na transcrição de receptores dopaminérgicos

		modelo de Parkinson.			devido à $\alpha$ -sinucleína. IF e ISQ não sofreram alterações.
(AVRAHAM et al., 2011)	Ratos Wistar/Machos	Averiguar a ocorrência de apoptose neuronal induzida pela privação do sono REM devido à ação de receptor $\alpha 1$ .	Teste de Plataformas Múltiplas para privação de sono REM	Observação do tecido cerebral por microscopia eletrônica, Imunoblotting, Western blot junto com anticorpos e reagentes específicos para análise do mesmo tecido	Expressão de promotor de morte celular associada a BCL-2 (B-cell lymphoma-2); Expressão do citocromo c. Expressão de APAF-1. Alteração de aspectos morfológicos nas mitocôndrias de ratos OS.
(CHEN et al., 2017)	Ratos Sprague-Dawley/Machos	Verificar de que forma a privação do sono acelera a progressão da doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris (MWM)	Western blot RT-PCR Concentração de corticosterona e $\beta$ -amiloides medida por ELISA	Níveis de corticosterona normais. Frações de $\beta$ -amiloides em níveis significativamente e mais elevados em ratos PS. Latência de escape (MWM) maior em ratos PS. Proteínas precursoras de $\beta$ -amiloide mais elevados em ratos PS.
(DI MECO; JOSHI; PRATICÒ, 2014)	Ratos 3xTg/Machos e Fêmeas	Compreender os diferentes mecanismos afetados pela privação de sono que prejudicam funções cerebrais relacionadas ao Alzheimer	Labirinto em Y Teste da gaiola locomotora Medo Condicionado Labirinto Aquático de Morris	Radioimunoensaio de precipitação Imunohistoquímica com tecido cerebral	Diminuição do tempo de congelamento (MC). Frações de $\beta$ -amiloide aumentadas no tecido cerebral, assim como pTaufosforilada.
(TABUCHI et al., 2015)	Moscas do gênero Drosophila	Verificar de que forma o sono modula a	Sistema de monitorização o Trikinetics durante período de	Imunocoloração PCR Tratamento de calor e Paraquat	Produção de $\beta$ -amiloide leva ao sono reduzido e fragmentado. PS noturna aumenta

		excitabilidade neuronal.	privação de sono.	Uso de levetiracetam em experimentos	a carga de peptídeo $\beta$ -amiloide. Manipulação da excitabilidade neuronal altera o acúmulo de peptídeo $\beta$ -amiloide.
(ZHANG et al., 2019)	Camundongos com DA $A\beta$ PP <sup>swc</sup> /PS1 <sup><math>\Delta</math>E9</sup> e camundongos selvagens WT	Avaliar os distúrbios do sono e alterações no EEG que cursam com o estágio inicial da doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris (MWM) Tarefa de Reconhecimento de Objetos (TRO) Labirinto em Y EEG para monitoramento da atividade cerebral durante o sono.	Coloração imunofluorescente no córtex e hipocampo	Declínio cognitivo de memória e aprendizagem observados nos testes comportamentais. Deposição de $\beta$ -amiloide e fosforilação de pTau no córtex e hipocampo de camundongos $A\beta$ PP <sup>swc</sup> /PS1 <sup><math>\Delta</math>E9</sup> mais velhos (6 meses). Alterações no EEG e no ciclo de sono-vigília nos diferentes estágios da DA.

Tabela 2- Panorama geral dos estudos pré-clínicos

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, S. M. Chronic sleep disturbance and neural injury. p. 55–61, 2016.

ALÓE, F.; AZEVEDO, A. P. DE; HASAN, R. Mecanismos Do Ciclo Sono Vigília. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 27, n. 11, p. 33–39, 2005.

ANDERSON, K. N.; BRADLEY, A. J. **Sleep disturbance in mental health problems and neurodegenerative disease** *Nature and Science of Sleep*, 2013.

AVRAHAM, Y. et al. Cannabidiol improves brain and liver function in a fulminant hepatic failure-induced model of hepatic encephalopathy. 2011.

BANKS, S.; DINGES, D. F. **Behavioral and physiological consequences of sleep restriction** *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 2007.

BRANDÃO, M. L. **Psicofisiologia**. 4<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atheneu, 2019.

CAMARGOS, E. F. et al. Incidência de distúrbios do sono em pacientes com doença de Alzheimer TT - Incidence of sleep disorders in patients with Alzheimer disease. **Einstein (São Paulo)**, v. 9, n. 4, p. 461–465, 2011.

CASSOL-JR, O. J. et al. Treatment with cannabidiol reverses oxidative stress parameters , cognitive impairment and mortality in rats submitted to sepsis by cecal ligation and puncture. **Brain Research**, v. 1348, p. 128–138, 2010.

CHEN, J. C. et al. Sleep duration, cognitive decline, and dementia risk in older women. **Alzheimer's and Dementia**, 2016.

CHEN, L. et al. Sleep deprivation accelerates the progression of alzheimer's disease by influencing A $\beta$ -related metabolism. **Neuroscience Letters**, 2017.

CHOKROVERTY, S. Overview of sleep & sleep disorders. n. February, p. 126–140, 2010.

CRONIN, P. et al. Circadian alterations during early stages of alzheimer's disease are associated with aberrant cycles of DNA methylation in BMAL1. **Alzheimer Dement**, v. 176, n. 3, p. 139–148, 2017.

CSERNANSKY, J. G. et al. Plasma cortisol and progression of dementia in subjects with Alzheimer-type dementia. **American Journal of Psychiatry**, 2006.

DE FALCO, A. et al. Doença de Alzheimer: Hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 63–80, 2016.

DI MECO, A.; JOSHI, Y. B.; PRATICÒ, D. Sleep deprivation impairs memory, tau metabolism, and synaptic integrity of a mouse model of Alzheimer's disease with plaques and tangles. **Neurobiology of Aging**, 2014.

ESPAÑA, R. A.; SCAMMELL, T. E. Sleep Neurobiology from a Clinical Perspective. **Sleep**, v. 34, n. 7, 2011.

GAUDREAU, P. O. et al. Abnormal occipital event-related potentials in Parkinson's disease with concomitant REM sleep behavior disorder. **Parkinsonism and Related Disorders**, 2013.

GOMES, M. DA M.; QUINBONES, M. S.; ENGELHARDT, E. Neurofisiologia do sono e aspectos farmacoterapêuticos dos seus transtornos. **Rev Bras Neurol**, v. 46, n. 1, p. 5–15, 2010.

GRAVES, L. A. et al. Sleep deprivation selectively impairs memory consolidation for contextual fear conditioning. **Learning and Memory**, 2003.

GRAVES, L.; PACK, A.; ABEL, T. **Sleep and memory: A molecular perspective** *Trends in Neurosciences*, 2001.

HAIRSTON, I. S. et al. Sleep restriction suppresses neurogenesis induced by hippocampus-dependent learning. **Journal of Neurophysiology**, 2005.

HIGGINS, E. S.; GEORGE, M. S. **Neurociências para psiquiatria clínica**. Porto alegre: Artmed, 2010.

HOOD, S.; AMIR, S. Neurodegeneration and the circadian clock. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 9, n. MAY, p. 1–9, 2017.

IM, H. J. et al. Associations of impaired sleep quality, insomnia, and sleepiness with epilepsy:

A questionnaire-based case-control study. **Epilepsy and Behavior**, 2016.

LAURETTI, E. et al. Circadian rhythm dysfunction: A novel environmental risk factor for Parkinson's disease. **Molecular Psychiatry**, 2017.

LONG, L. E. et al. A behavioural comparison of acute and chronic  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in C57BL/6J Arc mice. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 13, n. 07, p. 861–876, ago. 2010.

MALHOTRA, R. K. **Neurodegenerative Disorders and Sleep** *Sleep Medicine Clinics*, 2018.

MALLIS, M. M.; BANKS, S.; DINGES, D. F. Sleep and Circadian Control of Neurobehavioral Functions. In: **Neuroergonomics: The brain at work**. [s.l: s.n.].

NEVES, G. S. M. L. et al. Transtornos do sono: visão geral. **Revista Brasileira de Neurologia**, v. 49, n. 2, p. 57–71, 2013.

NEVES, G. S. M.; MACEDO, P.; GOMES, M. DA M. Transtornos do Sono - Gisele Moura & Marleide Mota. v. 53, n. 3, p. 19–30, 2017.

OOMS, S. et al. Effect of 1 night of total sleep deprivation on cerebrospinal fluid  $\beta$ -amyloid 42 in healthy middle-aged men a randomized clinical trial. **JAMA Neurology**, 2014.

PEREIRA, W. C. Mecanismos do sono e da vigília. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 28, n. 2, p. 141–152, 1970.

QIU, H. et al. Chronic Sleep Deprivation Exacerbates Learning-Memory Disability and Alzheimer's Disease-Like Pathologies in  $A\beta$ PPswe/PS1Delta;E9Mice. **Journal of Alzheimer's Disease**, 2016.

QUINHONES, M. S.; GOMES, M. DA M. Sleep in normal and pathological ageing: clinical and physiopathological aspects. **Rev. bras. neurol**, v. 47, n. 1, p. 31–42, 2011.

RAGGI, A.; FERRI, R. **Sleep disorders in neurodegenerative diseases** *European Journal of Neurology*, 2010.

RASMUSON, S. et al. Increased glucocorticoid production and altered cortisol metabolism in women with mild to moderate Alzheimer's disease. **Biological Psychiatry**, 2001.

ROTHMAN, S. M. et al. Chronic mild sleep restriction accentuates contextual memory impairments, and accumulations of cortical  $A\beta$  and pTau in a mouse model of Alzheimer's disease. **Brain Research**, 2013.

SCORALICK, F. M. AGALHÃES et al. Outpatient treatment of sleep disorders in Alzheimer patients. **Einstein (São Paulo, Brazil)**, v. 13, n. 3, p. 430–434, 2015.

SILVA, K. K. M. et al. Alterações do sono e a interferência na qualidade de vida no envelhecimento. **Revista de Enfermagem UFPE**, v. 11, p. 422–428, 2017.

SILVERMAN, J. J. et al. **The american psychiatric association practice guidelines for the psychiatric evaluation of adults**. [s.l: s.n.]. v. 172

SOUSA, L. M. M. DE et al. Revisões da literatura científica: tipos, métodos e aplicações em enfermagem. **Revista Portuguesa de Enfermagem de Reabilitação**, v. 1, n. 1, p. 45–55, 2018.

TABUCHI, M. et al. Sleep interacts with  $\alpha\beta$  to modulate intrinsic neuronal excitability. **Current Biology**, 2015.

TAGLIAZUCCHI, E.; VAN SOMEREN, E. J. W. **The large-scale functional connectivity correlates of consciousness and arousal during the healthy and pathological human sleep cycle** *NeuroImage*, 2017.

TUFIK, S. **Medicina e Biologia do Sno**. 1<sup>a</sup> ed. [s.l.] Manole, 2008.

WEI, M. et al. Sleep Deprivation Induced Plasma Amyloid- $\beta$  Transport Disturbance in Healthy Young Adults. **Journal of Alzheimer's Disease**, 2017.

ZHANG, F. et al. Alteration in sleep architecture and electroencephalogram as an early sign of Alzheimer's disease preceding the disease pathology and cognitive decline. **Alzheimer's and Dementia**, 2019.

# CAPÍTULO 11

## CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS, DE COMPOSIÇÃO CORPORAL E DA CAPACIDADE AERÓBICA DE UM TIME DE FUTEBOL DE CAMPO SUB-19

DOI: 10.47402/ed.ep.c202172510585

**Katharyna Oliveira Sousa**, graduada em Educação Física pela Faculdade Pitágoras  
**Matheus Felipe Joshua Silva Lopes**, graduado em Educação Física pela Faculdade Pitágoras  
**Rafael Dos Santos Coelho**, acadêmico do curso de Educação Física, Faculdade Pitágoras  
**Thamyris da Silva Carvalho**, acadêmica do curso de Educação Física, Faculdade Pitágoras  
**Poliane Dutra Alvares**, Mestre em Educação Física, UFMA, professora do curso de Educação Física pela Faculdade Pitágoras  
**Andrea Dias Reis**, Doutora em Ciências da Motricidade pela Universidade Estadual Paulista - Júlio Mesquita Filho, UNESP, professora do curso de Educação Física, UFMA  
**Surama do Carmo Souza da Silva**, Mestre em Ciências da Saúde, UFMA, professora do curso de Educação Física da Faculdade Pitágoras

### RESUMO

O futebol é um dos esportes mais praticados no mundo e possui um alto componente aeróbico, podendo este ser influenciado pelas variáveis antropométricas e de composição corporal, consequentemente repercutindo assim na eficiência do atleta dentro da partida. Devido a isso, o objetivo da presente pesquisa é avaliar as variáveis antropométricas, de composição corporal e de capacidade aeróbia de atletas de categoria de base sub-19 de futebol de campo. O estudo foi composto por 37 atletas com  $17,86 \pm 0,75$  anos, estatura  $1,75 \pm 0,06$ m, peso  $66,15 \pm 9,90$ kg, e índice de massa corpórea (IMC)  $21,41 \pm 2,33$ Kg/m<sup>2</sup>. Para avaliação da composição corporal o método de dobras cutâneas de 4 dobras e a medição da estatura foi realizada no estadiômetro Sanny (ES2040) fixado à parede. O teste de Cooper de 12 minutos (TC12) foi utilizado para avaliar a capacidade aeróbia. Para a análise da normalidade foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk ( $p \leq 0,05$ ). Os valores são apresentados em média e desvio padrão, em valores absolutos (Kg ou s) e relativos (%). Os atletas foram classificados como “eutrófico” ( $p= 0,71$ ) no IMC, e massa gorda (%MG) como “ótima” ( $p= 0,49$ ). No teste de Cooper de 12 minutos (TC12) foram classificados como “muito fraco” e Déficit Funcional Aeróbico (FAI) de  $30,29 \pm 10,77$  abaixo do previsto. Apesar disso, estes foram classificados como “executantes de atividade vigorosa” em relação aos equivalentes metabólicos (METs) gastos. Sendo assim, apesar de os atletas apresentarem adequado componente morfológico, em se tratando da capacidade aeróbica esses apresentam um déficit funcional aeróbio.

**PALAVRAS-CHAVE:** Futebolistas, Antropometria, Capacidade aeróbia, Jovens atletas, Desempenho atlético.

### INTRODUÇÃO

O futebol é um dos esportes mais praticados no mundo (CONMEBOL, 2016). Fato evidenciado no Brasil com maior intensidade devido a aspectos como a grande miscigenação

do seu povo e sua história vitoriosa no cenário mundial, transformando o futebol em uma identidade nacional (GONÇALVES *et al.*, 2016).

Se por um lado percebe-se numerosos clubes visando maiores níveis profissionais para os jogadores de categorias de base do futebol, por outro, observa-se a especialização precoce desses indivíduos forçando-os a obter altos rendimentos em pouco tempo (MANTOVANI *et al.*, 2008). Treinar jovens no esporte representa uma tarefa complexa, que deve ser compreendida e desenvolvida a longo prazo (BETTEGA, 2018). Segundo Siqueira *et al.* (2007), essa complexidade se dá principalmente pelo fato de estarem passando pelo período puberal, que repercute em um conjunto de mudanças biológicas e físicas que acontecem de forma sequencial e ordenada, relacionadas com o crescimento e desenvolvimento, tanto físico como psicológico, levando o indivíduo a atingir o estado adulto. Entretanto, ainda segundo os autores, o período de manifestação de cada componente retrata uma diversidade e uma variabilidade interindividual.

Herdy *et al.* (2013) relatam que os atletas sofrem grandes mudanças morfofuncionais devido à influência da puberdade e da fase pós-púbere, ficando extremamente difícil separar as alterações advindas do treinamento daquelas que estão associadas ao crescimento maturacional, dentre eles entre aumento da massa corporal e adiposidade (CUMPIAN-SILVA *et al.*, 2018). Para Digionani (2012), é necessário que haja a adequação das exigências esportivas à maturação fisiológica e psicológica do atleta, evitando sobrecargas de treinamento, lesões e até mesmo o abandono do esporte.

Alguns autores acreditam que as variáveis antropométricas como estatura e massa corporal é quem influenciam nas capacidades e habilidades físicas dos atletas (FONSECA *et al.*, 2004). Ao contrário, há pesquisadores que acreditam que diferenças na composição corporal ocorrem devido ao tipo de treinamento, esta relacionada com a posição que ocupam na equipe (MATTOS e JABUR, 2008). Outros autores atribuem a diferenciação da composição corporal baseada em fenótipos individuais, sendo eles relacionados com a adiposidade (F1), puberdade (F2), alterações bioquímicas (F3) e muscular (F4) (LAUX; ZANINI, 2016), defendendo que cada pessoa irá apresentar características físicas e metabólicas de maneira individualizada e já determinada. Porém independente de quem irá alterar a antropometria e a composição corporal, o que se sabe é que para um bom desempenho, os atletas devem apresentar um percentual de gordura adequado (5 e 12% do peso corporal), levando em conta também a saúde desse indivíduo (KAMONSEKI *et al.*, 2019).

Segundo Kamonseki et al. (2019), o percentual de gordura de forma elevada pode diminuir a eficiência em ações de deslocamento como a corrida e saltos. No que diz respeito ao futebol, a velocidade, a resistência anaeróbia e a força muscular são as capacidades físicas mais valorizadas durante as seletivas pelos clubes por estarem presentes em gestos motores específicos do futebol. Porém a energia proveniente relativa a 88% das movimentações dos jogadores de futebol vem do metabolismo aeróbico, considerando que os atletas percorrem aproximadamente 10 km em uma partida total (RAVAGNANI et al. 2013). Tendo em vista o alto grau de utilização nas partidas, a capacidade aeróbica é uma valência física de suma importância para o desempenho durante os jogos, e por isso é fundamental o seu planejamento visando tanto a avaliação dos atletas como a adequação da capacidade aeróbica aqueles que se apresentarem abaixo dos índices esperados, oferecendo suporte para o restante da temporada (PORTELA et al., 2018).

Sendo assim, o conhecimento do perfil antropométrico e de desempenho físico dos atletas no período da pré-temporada é necessário para traçar os objetivos e metas para o período subsequente e com isso melhorar o rendimento esportivo da equipe (RAVAGNANI *et al.*, 2013). Dessa forma, as avaliações devem ser realizadas de maneira científica para controlar mudanças nos componentes corporais e manter a saúde do atleta (ROSSETTO *et al.*, 2017). Logo, a determinação das características antropométricas, da composição corporal e das capacidades físicas se tornam fundamentais para o êxito de uma equipe, não só durante um jogo, mas durante toda a temporada, visto que tais informações podem e devem ser utilizadas pelo treinador para modificar a função do jogador ou até mesmo mudar a forma tática de toda equipe, com o objetivo de potencializar o desempenho, uma vez que cada posição manifesta características específicas (SOTÃO, 2013).

A hipótese inicial dessa pesquisa é de que por se tratar de indivíduos atletas de categoria sub-19 de futebol, os avaliados dessa pesquisa tenham índices antropométricos e de capacidade aeróbica condizentes com a modalidade, sugerindo que o estresse decorrente do treinamento no futebol pode ser eficaz para induzir alterações morfofuncionais e fisiológicas. Assim sendo, o presente estudo tem por objetivo avaliar as variáveis antropométricas, de composição corporal e de capacidade aeróbia de atletas de categoria de base sub-19 de futebol de campo.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### ***TIPO DE PESQUISA E AMOSTRA***

O presente trabalho trata-se de uma pesquisa do tipo transversal e descritiva, com análise quantitativa. A amostra é caracterizada sendo do tipo não probabilística por conveniência. Foram aplicados os seguintes critérios de inclusão: a) Indivíduos do sexo masculino, b) Categoria de futebol sub-19, c) Que estivessem treinando ativamente dentro do clube e d) Que não tivessem nenhuma limitação de origem músculo esquelética que os impossibilitassem de realizar os testes. Em relação aos critérios de não inclusão, foram aplicados os seguintes critérios: a) Atletas que não concordasse colaborar de alguma das etapas da pesquisa, b) Quem não obtivessem consentimento de seus responsáveis ou c) Quem não assinasse o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e/ou Termo de Assentimento Livre Esclarecido (TALE). Como critérios de exclusão da amostra foram aplicados os seguintes parâmetros: a) Caso o participante não estivesse dentro dos critérios estabelecidos pelo Questionário de Prontidão para Atividade Física (PAR-Q) ou b) Não cumprisse com alguma das etapas do protocolo de avaliação. Nesses casos o participante seria considerado como perda amostral.

### ***PROCEDIMENTOS ÉTICOS***

Após os esclarecimentos dos procedimentos técnicos e éticos da pesquisa, os atletas que possuíam idade maior ou igual a dezoito anos assinaram o TCLE. Para os participantes com idade inferior a 18 anos, o seu responsável deveria assinar o TCLE e o participante assinar o TALE. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Maranhão (CAE:17239213.8.0000.5087).

### ***PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS***

Foram solicitados previamente os seguintes procedimentos: a) Todos os testes seriam aplicados durante o período da tarde entre 13 às 17h, na sala de Avaliação Física e também no Laboratório de Fisiologia da Faculdade Pitágoras Turu I, São Luís do Maranhão (Brasil), b) Os participantes deveriam estar vestidos com o uniforme de treino do time durante os testes, c) Deveriam se alimentar até 3hs antes das avaliações, d) Não poderiam tomar nenhum tipo de bebida energética no dia das avaliações, e) Não poderiam realizar nenhum tipo de esforço físico intenso até 48hs antes dos testes e f) Deveriam dormir de 6 a 8hs na noite anterior aos testes.

A avaliação antropométrica foi realizada através da medição das seguintes variáveis: estatura (m), massa corporal (Kg), IMC (massa corporal/estatura<sup>2</sup>), percentual de gordura (%G),

massa gorda absoluta (MG em Kg), percentual de massa magra (%MM), massa magra absoluta (MM em Kg) e dobras cutâneas (4 dobras).

A mensuração da estatura e do peso corporal seguem os protocolos descritos anteriormente pelo grupo (DA SILVA et al., 2020). Na mensuração da estatura foi utilizado o estadiômetro (Sanny ES2040) fixado à parede. A mensuração do peso foi efetuada com a balança digital com carga máxima de 200Kg (Bioland-EF912). A determinação dos índices de massa corporal (IMC) e do percentual de gordura (%G) foram calculados através do software de avaliação física Body Move (Body Move Systems).

Para o IMC utilizou-se a seguinte classificação: Magro ou baixo peso (<18,5), normal ou eutrófico (18,5-24,9), sobrepeso ou pré obeso (25-29,9 Kg/m<sup>2</sup>), obesidade 1 (30-34,9 Kg/m<sup>2</sup>), obesidade 2 (35-39,9 Kg/m<sup>2</sup>), e obesidade grave (≥40,0 Kg/m<sup>2</sup>) (MANCINI, 2016).

Para realizar as mensurações das dobras cutâneas utilizou-se o adipômetro (Innovare, CESCORF) com precisão de 1 milímetro. O protocolo para verificação do %G utilizado foi o de Durnin & Womersley (1974), que utiliza quatro dobras cutâneas (subescapular, tricípital, supra ilíaca e bicipital). Foi utilizada a seguinte classificação em relação ao G%: muito baixo (<6%), baixo (6-10%), ótimo (10,01-20%), moderadamente alto (20,01-25%), alto (25,1-30%) e muito alto (≥31%) (BOTH *et al.*, 2014).

A avaliação da capacidade cardiorrespiratória foi realizada através da aplicação do teste de Cooper, o qual determinava que os jogadores deveriam percorrer a maior distância possível correndo ou caminhando em tempo total de 12 minutos (COOPER, 1982). Através do software Body Move, foi calculado o VO<sub>2</sub> máx. obtido, VO<sub>2</sub>máx. previsto, o Equivalente Metabólico (MET) e o Déficit Aeróbico (DA) e classificados por nível de condicionamento obtido pelos valores do VO<sub>2</sub> máx, de acordo com a tabela de classificação do teste de Cooper. Em relação à intensidade, segundo modelo proposto por Pate et al. (1995) os METs são classificados em: < 3 METs – atividade leve; 3 a 6 METs – atividade moderada; > 6 METs – atividade vigorosa.

### ***ANÁLISE ESTATÍSTICA***

Foi utilizada uma estatística descritiva e realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade e distribuição dos dados. Tais valores são apresentados em média e desvio padrão. O tratamento dos dados foi através do programa estatístico BioEstat 5.0 e adotado um nível de significância de p<0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo teve por objetivo avaliar as variáveis antropométricas e capacidade aeróbia de atletas de categoria de base sub-19 de futebol de campo. No total, 37 indivíduos participaram das avaliações. Os dados de caracterização da amostra são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores médios da caracterização da amostra e valores antropométricos de atletas de futebol sub-19

Variáveis	Média ± DP	p
Idade (anos)	17,86 ± 0,75	< 0,05
Estatura (m)	1,75 ± 0,06	0,76
Peso (Kg)	66,15 ± 9,90	0,09
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	21,41 ± 2,33	0,71
G (%)	12,95 ± 3,46	0,49
G (Kg)	8,71 ± 3,23	< 0,05
MM (%)	87,04 ± 3,46	0,49
MM (Kg)	57,30 ± 7,90	0,40

Legenda: G: Gordura IMC: Índice de massa corporal; MG: massa gorda; MM: massa magra; RCQ = Relação cintura quadril; DP: Desvio padrão. Teste de normalidade de Shapiro Wilk ( $p \leq 0,05$ ).

Em relação a classificação do IMC, 78,38% (n= 29) dos participantes, ou seja, a maioria da amostra são classificados como eutrófico, seguido de 13,51% (n= 5) como baixo peso e 8,11% (n= 3) como sobrepeso. Quando analisado o %G, 78,38% (n = 29) apresentaram a classificação como ótima. Destes, 13,51% (n= 5) e 8,11% (n= 3) foram classificados respectivamente como baixo e moderadamente alto percentual de gordura. De acordo com Ravagnani et al. (2012), a avaliação antropométrica é importante para a orientação de controle de peso, intervindo de forma positiva sobre a performance dos atletas. Tal qual, é imprescindível na determinação do perfil antropométrico para estimar a massa corporal ideal para os futebolistas, além de controlar as mudanças na composição corporal conforme a idade (LAUX; ZANINI, 2016).

Na presente pesquisa, os atletas avaliados apresentaram valores de peso corporal (66,15±9,90 Kg), estatura (1,75±0,06 m), IMC (21,41±2,33 Kg/m<sup>2</sup>), Massa Gorda (8,71±3,23) e Massa Magra (57,30±7,90 Kg) compatíveis com a literatura. Em concordância com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2015), indivíduos que possuem o IMC menor que 25 kg/m<sup>2</sup> não apresentam sobrepeso. Sendo assim, o IMC médio dos avaliados foi classificado como normal/eutrófico, não apontando riscos à saúde. Valores aproximados de peso corporal (69,91 ± 7,65Kg), estatura (1,76 ± 0,5 m) e IMC (22,43 ± 1,71 Kg/m<sup>2</sup>), Massa Gorda (8,11 ± 3,81 Kg) e Massa Magra (61,8 ± 3,84 Kg) também foram encontrados na pesquisa de Laux e Zanini (2016) que investigaram a mesma população.

Segundo Rossetto et al. (2017), existe uma dificuldade na literatura em achar um padrão ideal do %G para as diversas categorias de atletas de futebol, no entanto, a referência para atletas profissionais encontra-se entre 7 a 14%. De acordo com Kamonseki et al. (2019), para um bom desempenho atlético, o %G deve estar entre 5 e 12% do peso corporal, sendo que valores acima do recomendado podem diminuir a eficiência em ações de deslocamento como a corrida e saltos, e valores abaixo do esperado não são recomendados por motivos de prejuízos a saúde. Referente ao percentual de gordura dos avaliados, o valor apresentado pelos atletas desta pesquisa se encontra dentro do estabelecido pelos autores.

**Tabela 2.** Valores médios referentes as avaliações da capacidade aeróbica em atletas de futebol sub-19.

<b>Variáveis</b>	<b>Média ± DP</b>	<b>p</b>
Distância (m)	2060,54 ± 238,92	0,39
VO <sub>2</sub> máx obtido (ml/kg/min.)	35,05 ± 5,41	0,34
VO <sub>2</sub> máx previsto (ml/kg/min.)	49,64 ± 1,43	< 0,05
FAI (%)	30,29 ± 10,77	0,45
MET	8,43 ± 0,40	< 0,05

Legenda: MET: Equivalente Metabólico; FAI: Déficit Funcional Aeróbico. DP: Desvio padrão. Teste de normalidade de Shapiro Wilk ( $p \leq 0,05$ ).

No teste de Cooper de 12 minutos (TC12), 59,46% (n= 22) dos participantes, ou seja, a maioria da amostra, são classificados como muito fraco, seguido de 8,11% (n= 3) como fraco, 29,73% (n= 11) estão na média, e 2,70% (n= 1) como bom. De acordo com o Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM, 2007, apud RONDON, 2017), a distância média alcançada pelos indivíduos desse estudo, 2.040 m equivale a uma classificação muito fraca de aptidão aeróbia quando comparado ao valor considerado pelo ACSM como bom (2.520 m).

Ravagnani et al. (2012) avaliou os valores de VO<sub>2</sub> máx de acordo com a posição em que jogavam, e encontrou os valores de 55,4±3,5 ml/kg/min<sup>-1</sup> para o goleiro, 53,8±4,0 ml/kg/min<sup>-1</sup> para o defensor, 55,4±3,6 ml/kg/min<sup>-1</sup> para o meio-de-campo e de 56,3±1,9 ml/kg/min<sup>-1</sup>, para o atacante, todos classificados como excelente. Esses valores bem superiores aos encontrados no presente estudo (34,32 ± 5,41/56,3±1,9 ml/kg/min<sup>-1</sup>).

Através do VO<sub>2</sub>máx previsto é criado um subsídio informativo sobre as condições em que o avaliado deveria se apresentar de acordo com as suas características individuais (idade, sexo, peso e nível de atividade física), obtendo assim parâmetros de capacidade aeróbica a serem comparados. O Déficit Aeróbio Funcional (FAI) atua como um indicador em termos de percentuais do quanto o avaliado está acima ou abaixo do VO<sub>2</sub> máx previsto, sendo mais fácil demonstrar ao avaliado o grau de sua condição física (SEVERIANO, 2010).

Em nosso estudo, os atletas avaliados obtiveram um  $VO_2\text{máx}$  de  $34,32 \pm 5,41$  ml/kg/min<sup>1</sup>. Tal valor encontra-se bem abaixo do  $VO_2\text{máx}$  previsto para este grupo ( $49,79 \pm 1,43$  ml/kg/min<sup>-1</sup>), ou seja, um FAI de  $30,29 \pm 10,77\%$  de déficit. Sendo assim, esses resultados reforçam os apresentados pela classificação através da distância no TC12. Pelo fato da capacidade aeróbica ser um importante componente para a performance no futebol, devido a longa duração do jogo e a necessidade de recuperação entre estímulos de alta intensidade, os atletas da presente pesquisa demonstraram não ter uma aptidão aeróbia condizente com a modalidade, necessitando assim de uma adequação dos treinos para que essa deficiência seja superada (SOUSA; PRAÇA; GRECO, 2017).

Em relação à intensidade, os METs, 100% (n = 37) dos participantes foram classificados como executantes de atividade vigorosa. Os METs cujo valor foi  $9,81 \pm 1,54$ , pode ser caracterizado como de elevada intensidade. De acordo com Ainsworth et. al, (2000, apud MELO, 2008), as atividades acima de 6 MET são classificadas como vigorosas. Neste caso podemos destacar que o futebol é uma modalidade de alta intensidade. Contudo, é insatisfatória a literatura sobre a intensidade de jogos no futebol, pois não foi encontrado muitos artigos que apresentasse resultados expressos em kcal/min e MET.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sendo assim, pode-se concluir que os atletas se apresentam dentro dos valores esperados de antropometria e composição corporal para a idade e modalidade esportiva que praticam. Em relação a capacidade aeróbica, destacam-se valores diminutos, apresentando assim uma baixa resistência aeróbica. Em vista disso, é fundamental a atenção nas avaliações, pois é um período de muitas transformações no desenvolvimento para que consequências futuras não interfiram negativamente no processo de profissionalização nas categorias subsequentes.

Considerando essas informações, os profissionais de Educação Física devem avaliar os jogadores através de diversos testes e relacionar os resultados com os desempenhos nas partidas, o que exponenciaria as possibilidades de erro no processo de seleção. Então sugere-se outros recursos como recordatórios nutricionais, de atividades físicas, econômicas e sociais como forma de conhecer a realidade desses atletas, e esses resultados poderem servir de subsídios para implementação de ações direcionadas individualmente como forma de suprir determinadas necessidades que possam estar influenciando no rendimento.

## REFERÊNCIAS

- BETTEGA, Otávio. et al. **O ensino da tática e da técnica no futebol: concepção de treinadores das categorias de base**. Retos, n. 33, 2018. Disponível em: <http://www.retos.org/>. Acesso em: 21 de jul. de 2020.
- BOTH, D. R. et al. Uso de diferentes equações para identificação e classificação da gordura corporal de crianças e adolescentes. **Revista de Salud Pública**, v. 16, p. 431-442, 2014.
- CONMEBOL. **Confederação Sul-Americana de Futebol 265 milhões jogam futebol no mundo inteiro**. Disponível em: <http://www.conmebol.com/pt-br/content/265-milhoes-de-pessoas-jogam-futebol-no-mundo-inteiro>. Acesso em: 29 de mai. de 2020.
- CUMPIAN-SILVA, Jéssica. et al. Fenótipos corporais na adolescência e a maturação sexual. **Caderno de Saúde Pública**, v. 34, n. 3. 2018.
- DA SILVA, Surama do Carmo Souza et al. Características cardiovasculares em atletas de categoria de base do futebol. In **Propostas, recursos e resultados nas ciências da saúde 6** [recurso eletrônico] / Organizadores Luis Henrique Almeida Castro, Thiago Teixeira Pereira, Fernanda Viana de Carvalho Moreto. Ponta Grossa, PR: Atena, 2020. ISBN 978-65-5706-137-4. DOI.10.22533/at.ed.37420240619.
- DIGIONANI, Marina. Análise antropométrica de atletas de categorias de base de um time paranaense de futebol de campo. **Revista Brasileira de Futsal e Futebol**, São Paulo, v.4, n.13, p.182-188. Set/Out/Nov/Dez. 2012.
- GONÇALVES et al. Caracterização do perfil de jovens jogadores de futebol: uma análise das habilidades técnicas e variáveis antropométricas. **Revista Motricidade**, v. 12, n. 2, p. 27-37. 2016.
- HERDY, Carlos. Et al. Análise dos aspectos morfológicos de atletas de futebol Sub-07, Sub-09, Sub-11, Sub13, Sub-15, Sub-17 e Sub-20 e suas respectivas posições. **Revista Brasileira de Futebol**, v. 6, n.1, p. 45-53. Jan-Jun. 2013.
- KAMONSEKI, D. H. et al. Comparação da força, potência muscular, agilidade e flexibilidade entre as posições de praticantes de futebol com idades entre 10 e 15 anos. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 27, n. 1, p. 5-10, 2019. ISSN 0103-1716.
- LAUX, Rafael Cunha; ZANINI, Daniela. Identidade antropométrica de futebolistas da categoria de base sub-17 de Chapecó-sc. **Revista Brasileira de Futsal e Futebol**, São Paulo. v.8. n.28. p.46-51. Jan/Fev/Mar/Abr. 2016.
- MANCINI, Marisa Cotta. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2016, 4.<sup>a</sup> edição, Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade, Diretoria da ABESO e Editor-Coordenador**. 2016.
- MANTOVANI, Thiago. et al. Composição corporal e limiar anaeróbio de jogadores de futebol das categorias de base. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, São Paulo. v. 7. n. 1. p. 25-33. 2008.

MELO, Eric Renan Bandeira de. **Análise da intensidade relativa nos jogos de futebol de campo feminino**. Especialização (monografia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional. Belo Horizonte, 2008.

Organização Mundial de Saúde (OMS). **Obesity and overweight**, abr. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em 15 de jul. de 2021.

PATE, Russell. et al. Physical activity and public health: A recommendation from the Center for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. **The Journal of the American Medical Association**, v. 273. n.5. Fev. 1995.

PORTELA, Ruan. et al. Influência da pré-temporada na composição corporal de atletas de futsal. **Revista Brasileira de Futsal e Futebol**, São Paulo. v.10. n.40. Suplementar 1. p.557-563. Jan./Dez. 2018.

RAVAGNANI, Fabrício César de Paula. et. al. Avaliação física de jogadores de Futebol pertencentes a diferentes categorias. **Revista Brasileira de Futsal e Futebol**. v. 4. n. 11. p.67-73. 2012.

RAVAGNANI, Fabrício. et al. Perfil físico das diferentes posições de jogadores de futebol. **Revista brasileira de Ciência e Movimento**, v. 21, n. 2, p. 11-18. 2013.

RONDON, Maria Urbana. **Avaliação da potência aeróbia**. Escola de Educação Física e Esporte da USP. mai. 2017.

ROSSETTO, Alessandro. et al. Características antropométricas e da composição corporal de jovens jogadores de futebol. **Revista Brasileira de Futsal e Futebol**, São Paulo. v.9. n.34. p.308-313. Set./Out./Nov./Dez. 2017.

SEVERIANO, Nino. Textos básicos da avaliação física. Nino Severiano Educação e Desporto. Fev. 2010. Disponível em: <https://ninoseveriano.com/2010/02/13/textos-basicos-na-avaliacao-fisica/>. Acesso em 21 de jul. de 2020.

SIQUEIRA, Osvaldo Donizete. et al. **Efeitos da maturação biológica sobre a potência anaeróbia e aeróbia em jovens praticantes de futebol**, 2007. Disponível em: <http://www.cbce.org.br/docs/cd/resumos/329.pdf>. Acesso em 15 de jul. de 2020.

SOTÃO, Samir Seguins. et al. Perfil antropométrico e desempenho motor de jogadores de futebol juniores. **Revista Brasileira de Futsal e Futebol**, São Paulo, v.5, n.15, p.70-75. Jan/Fev/Mar/Abr. 2013.

SOUSA, Raphael Brito e; PRAÇA, Gibson Moreira; GRECO, Pablo Juan. Avaliação de jogadores de futebol: relação entre a capacidade aeróbica e eficácia tática. **Revista Brasileira de Futsal e Futebol**, São Paulo. v.9. n.33. p.190-196. Maio/Jun./Jul./Ago. 2017.

# CAPÍTULO 12

## ÚTERO BICÓRNEO ASSOCIADO A PARTOS PREMATUROS: RELATO DE CASO

DOI: 10.47402/ed.ep.c202172611585

**Hilka Quinelato**, Mestre em saúde pública, Facultad Interamericana de Ciências Sociales e Enfermeira da ESF, PMVNI

**Carina Duarte Martins**, Pedagoga, UNIMES e Agente comunitária de saúde, PMVNI

**Miriam Beatriz Jordão Moreira Sarruf**, Doutora em Odontologia e Professora adjunta, UFF

**Valquiria Quinelato**, Pós-doutorado em Odontologia, UFF

### RESUMO

As malformações uterinas e/ou anomalias congênitas são achados pouco comuns e constituem um grande desafio à clínica ginecológica, relacionado ao fato de que a maioria não é diagnosticada antes de uma gestação por serem assintomáticas ou por serem apenas diagnosticadas após a manifestação de complicações obstétricas ou infertilidade. As malformações podem estar associadas ao abortamento de repetição, apresentações fetais anômalas, posição fetal pélvica, infertilidade, parto prematuro e gestações complicadas por trabalho de parto prematuro. O termo prematuridade ou pré-termo resulta quando a gestação é interrompida com um nascido vivo antes de completar a 37ª semana, ou com peso igual ou inferior a 2.500 gramas. Está relacionado à complicação como mortalidade infantil e neonatal. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi descrever um relato de caso de útero bicórneo associado a duas gestações com parto prematuro, onde, na primeira gestação, a paciente apresentou histórico de tratamento para engravidar. Gestação 1: A gestação correu dentro dos trâmites adequados, com ganho de peso considerado normal, porém, com queixas de dores por volta de 30 semanas resultando em prematuridade, como consequência. O parto cesariana ocorreu com 34 semanas sem intercorrências e o recém-nascido ficou na Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal (UTIN). Gestação 2: paciente apresentava ganho de peso de 20 quilos em relação a gestação anterior, porém, com ganho de peso adequado durante a gravidez. Todo acompanhamento de pré-natal foi realizado dentro da normalidade, com histórico de perda de líquido amniótico cerca de 8 dias antes do parto, resultando em parto cesariana prematuro com 33 semanas. O recém-nascido ficou internado na UTIN. Conclusão: O diagnóstico precoce é a melhor forma de prevenir intercorrências durante a gestação. Quando se trata de malformações uterinas, o diagnóstico precoce evita muitos transtornos durante o período fértil da mulher. No presente estudo, mesmo com toda a assistência disponibilizada e ofertada as gestações evoluíram para um parto pré-maturo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Anomalia congênita, malformação uterina, parto prematuro, útero bicórneo

## INTRODUÇÃO

### MALFORMAÇÕES UTERINAS

As malformações uterinas ou anomalias congênitas são condições associadas ao desenvolvimento do aparelho reprodutor e representam risco durante a gestação. Essas anomalias têm origem durante a vida embrionária, em consequência da falha de reabsorção ou fusão dos ductos müllerianos (BADALOTTI et al., 2005; FERREIRA et al., 2007). “Os ductos de Müller representam os componentes primordiais do trato reprodutivo feminino” (PERCOPE; AQUINO, 2008) e se desenvolvem a partir da mesoderme (SOUTO; CUNHA, 2006; DALL’AGNOL; MENEGAZZO; PERES, 2016). Na mulher, os ductos Müllerianos se diferenciam após fusão em: trompas de Falópio, útero, cérvix e terços proximal e medial da vagina, enquanto ocorre à degeneração dos ductos Wolferianos (PERCOPE; AQUINO, 2008; DALL’AGNOL; MENEGAZZO; PERES, 2016; PASSOS et al., 2017). Ambos são precursores do sistema reprodutor interno feminino e masculino, coexistindo de forma indiferenciada no embrião até que os determinantes genéticos conduzam à diferenciação em ovários ou testículos (ANTUNES, 2016).

As malformações uterinas congênitas podem estar associadas ao abortamento de repetição, parto prematuro, apresentações fetais anômalas, infertilidade, gestações complicadas por trabalho de parto prematuro e apresentações pélvicas. Além disso, em alguns casos, causa sintomas de dismenorreia e dispareunia, são responsáveis por uma percentagem significativa dos casos de amenorreia e as alterações do trato urinário associadas com maior frequência são: agenesia renal, duplicação do útero e/ou vagina, duplicação renal e rim em ferradura (DALL’AGNOL; MENEGAZZO; PERES, 2016).

Os sinais e sintomas mais frequentes variam de acordo com os tipos de malformações: dor pélvica cíclica e abdominal, massa pélvica palpável e dismenorreia. Amenorreia, dispareunia, retenção urinária, infertilidade e complicações obstétricas são menos comuns. Contudo, estas manifestações se apresentam mais dolorosas, quando o septo vaginal funde com parede vaginal, ocasionando a uma obstrução completa. Se essa obstrução for incompleta, os sintomas podem ser tardios ou sutis (PASSOS et al., 2017).

Em outros casos, as pacientes portadoras de malformações são oligossintomáticas ou mesmo assintomáticas, preservando a função menstrual, sexual e até mesmo reprodutiva (FERREIRA et al., 2007). Para que ocorram as malformações é necessário que haja

interferência na embriogênese normal (BADALOTTI et al., 2005; FERREIRA et al., 2007). Essas anomalias são classificadas em: o útero unicórneo, útero bicórneo, útero didelfo, útero arqueado, útero septado (parcial ou completo), agenesia, hipoplasia e útero infantil (Sociedade Americana de Fertilidade, 1988; FERREIRA et al., 2007; CHRISTIANSEN; DETTI, 2017).

### **ÚTERO BICÓRNEO**

É a mais comum das malformações uterinas, porém, ocasionam frequentemente dificuldade no diagnóstico. Resulta da falta de fusão completa do fundo uterino com o colo. Acontece na deficiência da fusão parcial e/ou distal dos ductos de Müller, resultando em dois fundos uterinos (cornos) com diferentes graus de fusão, simétricos ou não (FERREIRA et al., 2007), unidos ao nível do istmo (FERREIRA et al., 2007; BEGUERÍA et al., 2009), apresentando frequentemente único colo. Portanto, este tipo de alteração geralmente pode ser confundido com útero septado (FERREIRA et al., 2007; BEGUERÍA et al., 2009). O diagnóstico diferencial com o útero septado é primordial devido às diferentes consequências clínicas e estratégias terapêuticas (SOUTO; CUNHA, 2006), mas as vezes é difícil, principalmente se a avaliação pela ultrassonografia se restringe à via endovaginal. O útero bicórneo, pode estar associado ao septo vaginal longitudinal ou oblíquo (FERREIRA et al., 2007) e apresenta menos complicações obstétricas, podendo requerer cirurgia nos casos de abortos de repetição sem outras causas identificadas de infertilidade (SOUTO; CUNHA, 2006).

### **PREMATURIDADE**

Parto prematuro ou pré-termo é a intercorrência do nascimento antes do termo, ou seja, resulta em um nascido vivo com idade gestacional inferior a 37 semanas ou entre 140 e 257 dias após o primeiro dia da última menstruação. Diversos estudos têm citado aumento crescente no nascimento prematuro em vários países, inclusive naqueles desenvolvidos (BERGER et al., 2016; TUON et al., 2016; HENRIQUES et al., 2019; ORTELA, et al., 2020).

Os partos prematuros (PPT) podem ser classificados de duas formas: espontâneo e induzido. O parto é denominado espontâneo quando a mulher evolui para o trabalho de parto espontaneamente, ou quando ocorre ruptura das membranas sem intervenção clínica. É denominado induzido quando existe interferência médica em virtude de intercorrências relacionados à mãe e/ou ao feto. Os motivos mais frequentes são placenta prévia, pré-eclâmpsia grave, sofrimento fetal, descolamento prematuro de placenta. A maioria dos PPT é espontânea,

porém a taxa do PPT induzido apresenta aumento correspondente a 20% na atualidade comparado aos dados de 1990 (BERGER et al., 2016).

A prematuridade espontânea ou induzida é motivo de grande preocupação, considerada uma complicação obstétrica frequente com grandes repercussões visto que suas complicações estão associadas à mortalidade neonatal e infantil, incluindo paralisia cerebral, cegueira, doenças respiratórias, incapacidades, déficit cognitivo e surdez e ainda é considerado um grande desafio à saúde pública de todo o mundo, além de gastos com saúde e atendimento na rede de atenção especializada. Mesmo com os avanços conquistados na sobrevivência desses recém-nascidos em decorrência das melhorias relacionadas ao pré-natal e ao parto neonato, as sequelas e agravos associados contribuem com até 75% da mortalidade. É de extrema relevância ressaltar que tanto a prematuridade quanto o óbito infantil são constructos da mesma rede causal e, que os aspectos relacionados a inadequações do cuidado pré-natal tais como: início tardio após o primeiro trimestre do pré-natal, falta de acesso ao atendimento, frequência insatisfatória, número de consultas menor que seis e má qualidade do atendimento, impedem a possível intervenção em tempo oportuno e hábil (BERGER et al., 2016, TUON et al., 2016).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstrou que em 2016, cerca de 15 milhões de recém-nascidos entre os nascidos-vivos foram prematuros, representando mais de 10% do total dos nascimentos (HENRIQUES et al., 2019; LOPES, SANTOS, CARVALHO, 2019). Os nascimentos prematuros geram gastos adicionais ao serviço público de saúde devido ao atendimento especializado de maior complexidade; muitas vezes em unidades de tratamento intensivo, podendo repercutir na saúde do indivíduo em longo prazo (HENRIQUES et al., 2019; AYRES et al., 2021).

Entre alguns dos fatores de riscos que contribuem para o nascimento prematuro espontâneo incluem-se sangramento vaginal e/ou hemorragia pré-parto, história pessoal de PPT, descendência afro americana, hipertensão arterial, eclampsia, alteração do volume do líquido amniótico, infecção do trato urinário, tabagismo na gestação, nível socioeconômico, baixo peso ou obesidade, gestação múltipla, estresse, ruptura prematura das membranas, idade extrema: <16 ou >35 anos, hemorragia pré-parto, insuficiência do colo uterino, anomalias uterinas congênitas, diabetes gestacional e fragilidade na assistência ao pré-natal, todos apresentam efeito sobre a idade gestacional, inclusive com a presença de intercorrências. Há uma dificuldade em trabalhar com prevenção ao PPT devido aos números de fatores desencadeantes da patologia (BERGER et al., 2016; TUON et al., 2016).

Ainda não foi estabelecido um único método para realização do cálculo da idade gestacional (IG). Os métodos utilizados variam de acordo com os profissionais e apresentam precisão e limitações variadas, entre eles destacam-se: data da última menstruação (DUM), ultrasonografia (USG) obstetra e exame físico. DUM constitui a primeira preferência, isso quando a grávida recorda com precisão, se lembrada, podendo não ser a previsão real devido a algum sangramento existente nos três primeiros meses ou irregularidade menstrual. Com avanços tecnológicos, a USG obstetra nos últimos anos representa um aumento significativo na indicação para estipular a IG e data provável do parto (DPP). No entanto, a IG da USG é calculada em conjunto com medidas fetais estabelecidas pela DUM, sendo variável em detrimento de cada população. Nas ocasiões em que a mulher não realizou USG dentro do primeiro trimestre de gestação e não recorda a DUM, o cálculo estimado pode ser feito nos primeiros dias de vida do recém-nascido através de observação das características físicas e neurológicas. Para o autor a utilização do exame clínico para estabelecer a estimativa é alvo de críticas, existe uma grande inadequação na maioria dos escores acordados para realização da avaliação (HENRIQUES et al., 2019).

Diante do exposto e do acontecimento ser crescente em alguns países, em especial o Brasil e as causas serem diversas, evidencia-se a necessidade de melhor conhecer e entender as características das gestantes que foram acometidas decorrentes do PPT com intuito de melhor compreender essa etapa da vida para posteriormente trabalhar em ações de promoção a saúde da mulher e do recém-nascido (BERGER et al., 2016). Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi descrever um relato de caso de útero bicórneo associado a duas gestações resultando em parto prematuro.

## **RELATO DE CASO**

### **DADOS GERAIS**

Paciente com 32 anos, parda, casada, menarca aos 15 anos, ciclo menstrual irregular, queixas constantes de dismenorreia e disuria leve, negava dispareunia, passou por atendimento médico inúmeras vezes, com as mesmas queixas e sempre em uso de anticoncepcional com trocas frequentes. Aos 18 anos, após diversas consultas médicas com relatos de irregularidade e atraso menstrual, com solicitação da USG, foi diagnosticada com dois cornos uterinos divergentes (útero bicórneo), com ecotextura homogênea, sem evidências de lesões focais, um único colo uterino e uma vagina não septante. Endométrios ecogênicos, centrados, medindo 2,7 mm de espessura à direita e 3,5 mm à esquerda. Ovários de volume e ecotextura normais.

Ovários direito: 1,6 x 1,4 x 1,9 cm (volume 2,5 ml); ovário esquerdo: 2,3 x 1,6 x 2,2 cm (volume 4,4 ml). Fundo de saco posterior livre. O corno uterino direito mostrava-se normal, em continuidade com colo uterino e vagina, o corno uterino esquerdo também mantinha tamanho normal, ambos medindo cerca de 5,7 x 2,7 x 5,7 cm (longitudinal x anteroposterior x transversal) com volume de 41 ml. Nenhuma evidência de duplicação vaginal foi observada. Ao exame ginecológico, apresentava genitália externa normal e septo vaginal longitudinal, que se estendia até à região himenal e presença de um colo uterino.

A participante de pesquisa fez tratamento com especialista ginecologista para engravidar resultando em duas gestações. Ambas evoluíram com algumas intercorrências, ocasionando partos prematuros. O anonimato da paciente foi preservado neste relato, sendo apresentados apenas dados da história médica, sem identificação da mesma. A participante da pesquisa consentiu, por escrito, em disponibilizar a utilização de seus dados para fins científicos.

### **GESTAÇÃO 1.**

Durante primeira consulta de pré-natal, a paciente relatou DUM em 20-09-15. Com essa informação foi realizado cálculo para DPP em 27-06-16. Utilizando esta referência para contar a IG, em base de semana gestacional, na última consulta, a gestação apresentava 33 semanas (Tabela 1).

Ao exame USG obstétrico com translucência nucal, foi visualizado corno uterino direito grávido (Tabela 2). A gestação apresentou algumas intercorrências que resultaram em parto prematuro.

Tabela 1. Demonstração da evolução das consultas obstétricas

Parâmetros	Consultas				
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>
Data	Dez/2015	Jan/2016	Fev/2016	Abr/2016	Mai/2016
Idade Gestacional (US)	13s 5d	19s	23s 1d	28s 5d	33s
Peso	58	58	59	62	64
Pressão Arterial	100x60	100x60	100x60	100x60	100x60
Altura Uterina	13	19	22	26	32
Batimento Cardio Fetal	148 -	148+	148+	148+	148+
*Sulfato Ferroso (40mg/dia)	Uso contínuo durante toda gestação				
*Ácido Fólico (5mg/dia)	Uso durante primeiro trimestre de gestação				
Avaliação	Clínico geral				

Legenda: Dados obtidos de prontuário e cartão de pré-natal. \*(Fabricado por Natulab Laboratório S.A, Bahia, Brasil). Fonte: Os próprios autores.

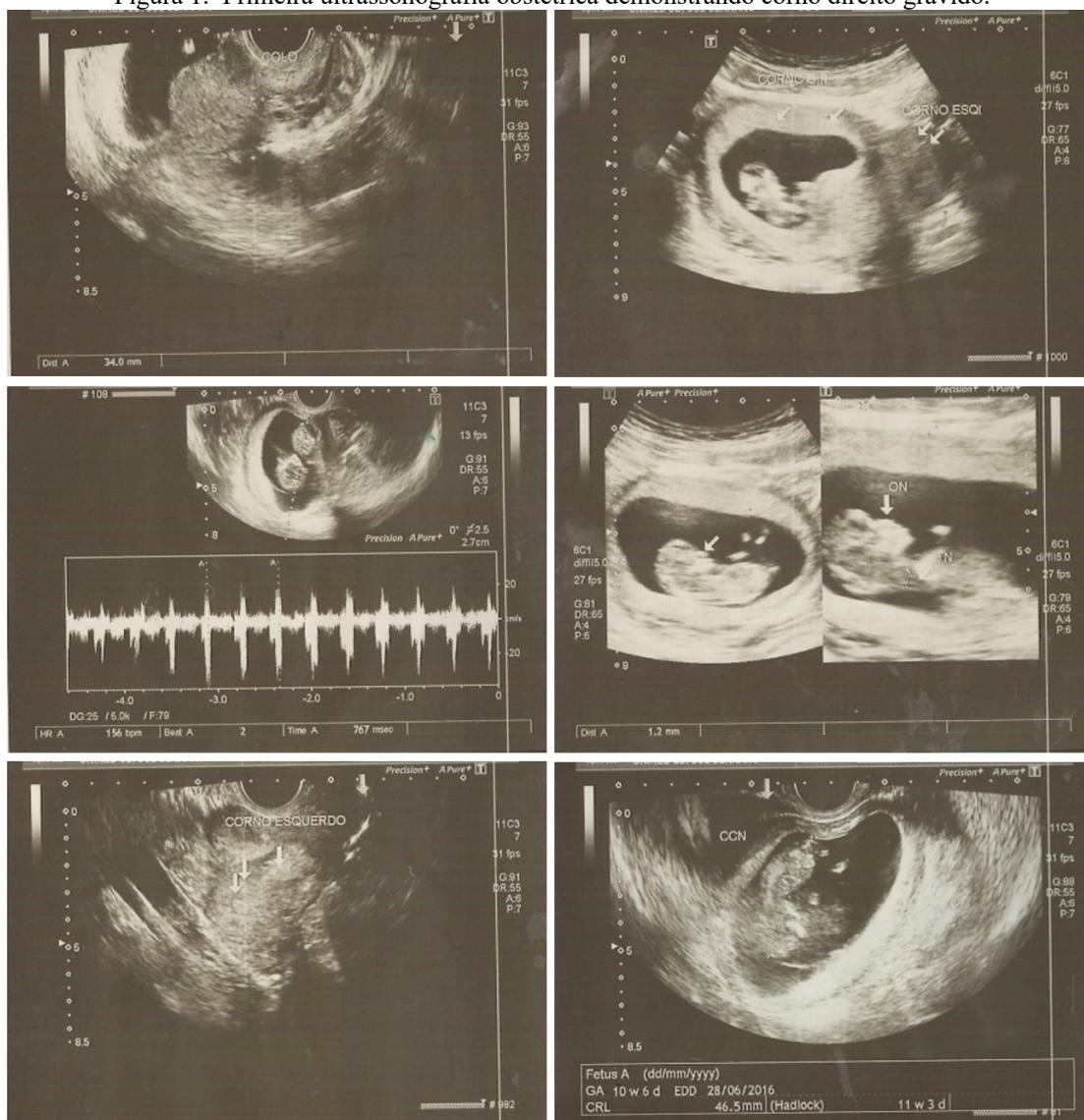
Por se tratar de gestação de alto risco devido a presença de útero bicórneo foram realizadas seis USG durante o período gestacional (Tabela 2). Na Figura 1 observa-se imagem de ultrassonografia obstétrica demonstrando útero bicórneo com feto único, vivo, em corno direito.

Tabela 2. Exibe Resultado das Ultrassonografias Obstétricas (USG)

Data	Idade Gestacional (USG)	Peso Fetal	Placenta	Líquido Amniótico	Observação
Dez/2015	11 semanas, 3 dias	-	-	Normal	Útero bicórneo, com corno uterino direito grávido, feto único - DPP:24-06-16 (40s)
Jan/2016	17 semanas	181g	Grau 0	Normal	Útero bicórneo, com corno uterino direito grávido, feto único, pélvico, dorso à direita -DPP:23-06-16 (40s)
Fev/2016	22 semanas, 4 dias	520g	Grau 0	Normal,	Feto único e vivo, pélvico, dorso à direita - DPP:23-06-16 (40s)
Mar/2016	24 semanas, 1 dia	689g	Grau 0	Normal, ILA:13,6	Feto único e vivo, pélvico, dorso à direita - DPP:23-06-16 (40s)
Abr/2016	28 semanas, 1 dia	1.210g	Grau 0	Normal, ILA:10,9	Feto único e vivo, pélvico, dorso à esquerda - DPP: 23-06-16 (40s)

Legenda: Dados obtidos de USG. Fonte: Os próprios autores.

Figura 1. Primeira ultrassonografia obstétrica demonstrando corno direito grávido.



Legenda: Dados obtidos de USG. Fonte: Os próprios autores.

## PARTO

Pós-parto cesáreo por amniorrexe +TPP + apresentação pélvica + útero bicórneo.

A internação ocorreu devido a ruptura prematura de membrana (ROPREMA), não especificada. O parto foi cesáreano com 34 semanas (Maio/2016). Profissional que assistiu nascimento – pediatra. O recém-nascido do sexo masculino apresentou baixo peso 2.120 kg, porém, adequado para a idade gestacional; estatura 42 cm; perímetro cefálico 31 cm; ausência

de malformações; Apgar: 06/09; teste coraçãozinho normal; teste pezinho normal, repetido em 30 dias pós nascimento; tipagem sanguínea A+.

Nasceu em apneia + hipotonia, necessitou de internação na UTI neonatal do mesmo serviço, com suspeita de sepse neonatal, recebeu dieta por sonda orogástrica, em vigilância de icterícia neonatal. Avaliação neurológica: presença de reflexos primitivos, não apresentou convulsão, não recebeu sedação. Avaliação cardiovascular: ausculta cardíaca sem alterações; estável hemodinamicamente e não necessitou drogas vasoativas. Respiratório: ausculta respiratória sem alterações, ficou em CPAP (máscara nasal) 19/05. RX tórax: infiltrado fino intersticial bilateral (leve), área cardíaca adequada. Gastrointestinal: abdome flácido, plano, indolor a palpação, coto umbilical mumificado, eliminou mecônio em 48h de vida, evacuação normal. Recebeu alta após 12 dias (jun/2016). A evolução puerperal (mãe), ocorreu dentro da normalidade.

## GESTAÇÃO 2

Na primeira consulta de pré-natal a gestante relatou DUM em 20-06-20, em base calculou-se DPP para 27-03-21. A IG na última consulta foi de 31 semanas e 5 dias (Tabela 3).

Tabela 3. Demonstração da evolução das consultas obstétricas.

Parâmetros	Consulta					
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>
<b>Data</b>	Agos/2020	Set/2020	Out/2020	Nov/2020	Dez/2020	Jan/2021
<b>Idade Gestacional (US)</b>	9s 5d	14s 2d	18s 2d	22s 5d	27s 2d	31s 5d
<b>Peso</b>	72,700	71	70	72,400	72,850	74,500
<b>Pressão Arterial</b>	100x70	110x70	110x80	120x80	110x70	100x60
<b>Altura Uterina</b>	-	-	19	21	25	31
<b>Batimento Cardio Fetal</b>	-	-	148 +	142 +	148 +	148 +
<b>*Sulfato Ferroso (40mg/dia)</b>	Uso contínuo durante toda gestação					
<b>*Ácido Fólico (5mg/dia)</b>	Uso durante primeiro trimestre de gestação					
<b>Avaliação</b>	Clínico geral					

Legenda: Dados obtidos de prontuário e cartão de pré-natal. \*(Fabricado por Natulab Laboratório S.A, Bahia, Brasil). Fonte: Os próprios autores.

Na segunda gestação foram realizadas seis USG (Tabela 4). Como a primeira gestação, a segunda também foi de alto risco devido a presença de malformação uterina. A segunda

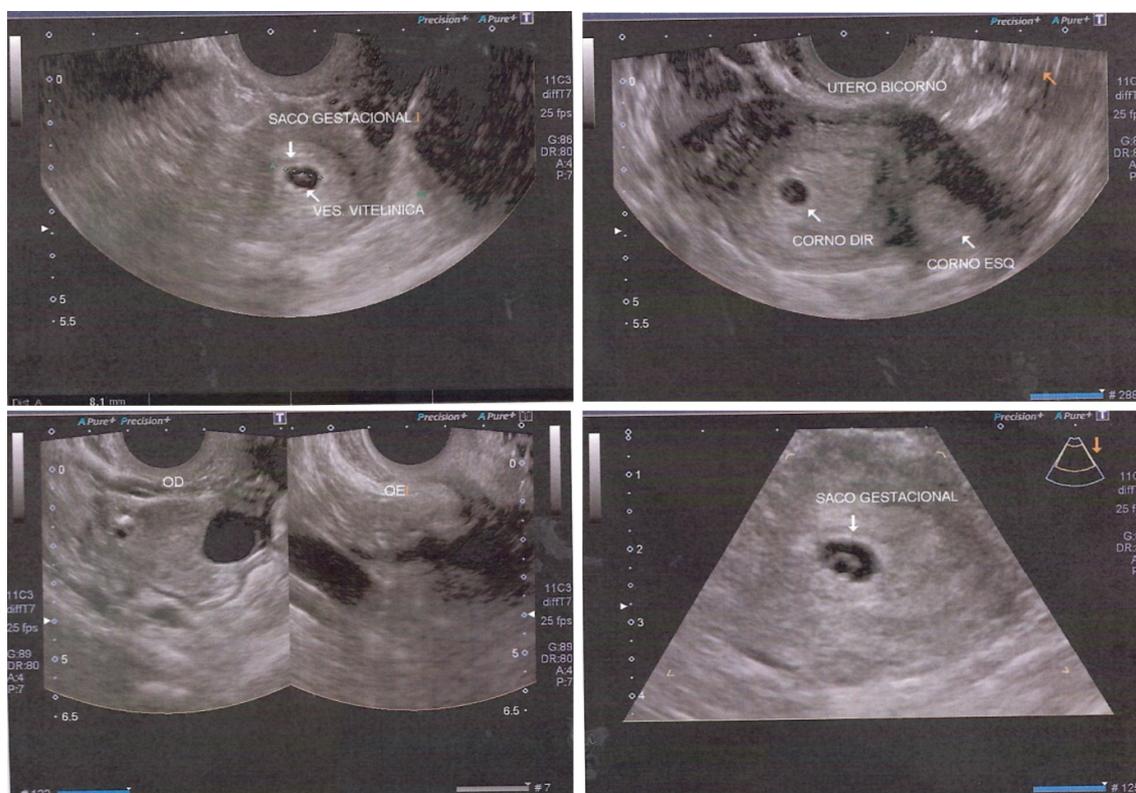
ultrassonografia obstétrica demonstrou útero bicórneo e vesícula vitelina em corno uterino direito (Figura 2).

Tabela 4. Exibe Resultado das Ultrassonografias Obstétricas (USG).

Data	Idade Gestacional *(USG)	Peso Fetal	Placenta	Líquido Amniótico	Observação
Jul/2020	Inferior a 5 semana	-	-	-	Útero bicórneo, saco gestacional e vesícula vitelina individual no corno uterino direito.
Agos/2020	8 semanas, 5 dias	-	-	Normal	Útero bicórneo com corno uterino direito grávido, feto único, vivo – DPP: 27-03-21 (40s).
Set/2020	12 semanas	-	-	Normal	Feto único, vivo - DPP: 29-03-21 (40s)
Out/2020	16 semanas, 1 dia	144g	Grau 0	Normal	Feto único, vivo, pélvica – DPP: 25-03-21 (40s)
Nov/2020	22 semanas, 4 dias	519g	Grau 0	Normal	Feto único, vivo, pélvico, dorso à esquerda – DPP:28-03-21 (40s)
Jan/2021	28semanas,1 dia	1.193g	Grau 0	Normal, ILA:17.2	Feto único, vivo, pélvico, dorso à esquerda – DPP: 28-03-21 (40s)

Legenda: Dados obtidos de USG. Fonte: Os próprios autores.

Figura 2. Ultrassonografia obstétrica com saco gestacional e vesícula vitelina individual no corno uterino direito.



Legenda: Dados obtidos de USG. Fonte: Os próprios autores.

## **PARTO**

A internação ocorreu por ruptura prematura de membranas (ROPREMA). O parto foi prematuro, cesariana, com 33 semanas (Fev/21), sexo masculino; profissional que assistiu nascimento - pediatra; o recém-nascido apresentou desconforto respiratório, instabilidade hemodinâmica e icterícia; ficou internado 07 dias na UTI neonatal. Exame físico: peso 2.140 kg; estatura 42 cm; perímetro cefálico 33 cm; ausência de malformações; Apgar: 10/10; tipagem sanguínea B+; teste coraçãozinho normal; teste pezinho normal. Recém-nascido ativo e reativo; hidratado, corado, levemente icterico, rosado, pulsos cheios, reflexo de busca presente, sem sopro, eupneico; abdome flácido, peristalse presente. Teste coraçãozinho normal; teste da orelhinha direita e esquerda falhou (repetiu exame em 20 dias); teste do reflexo vermelho normal. A evolução puerperal (mãe), ocorreu dentro da normalidade. Recebeu alta hospitalar em 48 horas.

## **DISCUSÃO**

A ilustração no presente estudo, demonstra a presença de útero bicórneo com atrofia em cavidade esquerda e aspecto normal na cavidade direita associado com duas gestações que culminaram em parto prematuro. As malformações relacionam-se frequentemente com resultados reprodutivos adversos e muitas vezes são detectadas apenas quando estes eventos ocorrem, podendo destacar-se desfechos obstétricos indesejados, dificultar a evolução gestacional pela falta de espaço adequado para o desenvolvimento do feto, incluindo aborto de repetição, má apresentação fetal e até mesmo levar a interrupções com parto pré-maturo. Em outros casos, as pacientes portadoras de malformações são oligossintomáticas ou mesmo assintomáticas, preservando a função menstrual, sexual e até mesmo reprodutiva (FERREIRA et al., 2007). Para que ocorram as malformações é necessário que haja interferência na embriogênese normal (BADALOTTI et al., 2005; FERREIRA et al., 2007).

No entanto, gestação espontânea associada a anomalias congênitas resultando em parto a termo também foi relatada na literatura, assim como, atendimento pré-natal realizado por profissional especialista ginecologista pode favorecer uma gestação sem intercorrência (QUINELATO et al., 2021). Contudo neste relato de caso, mesmo com toda a assistência necessária a uma gravidez de alto risco, as gestações foram interrompidas antes de completar as 37 semanas como preconiza o Ministério da Saúde.

As malformações uterinas acometem entre 1 à 6% da população feminina mundial (PERCOPE; AQUINO, 2008; MACHADO, GOMES, 2013; DALL'AGNOL; MENEGAZZO; PERES, 2016; PASSOS et al., 2017). Geralmente são diagnosticadas tardiamente devido a problemas relacionados a queixas de alterações no ciclo menstrual ou problemas de infertilidades (BADALOTTI et al., 2005; FERREIRA et al., 2007; TORGAL; CARVALHO, 2011; MACHADO; GOMES, 2013; QUINELATO et al., 2021). No presente relato de caso, o diagnóstico foi feito por ultrassonografia após diversas consultas médicas com queixas de irregularidade e atraso menstrual.

A ultrassonografia é uma das primeiras opções de exame complementar solicitado quando a queixa da paciente envolve alterações intrauterinas, sendo este um exame de baixo custo financeiro não invasivo e acessível, auxiliando no diagnóstico de patologias endometriais e uterinas (BADALOTTI et al., 2005).

Neste estudo de caso, foram observados dois partos prematuros associados a anomalias congênitas. Prematuridade ou pré-termo é a intercorrência do nascimento de um nascido vivo antes de completar 37 semanas, ou com peso igual ou inferior a 2.500 gramas, considerada uma das causas principais de mortalidade infantil e a segunda entre crianças até 5 anos, somado a diversos problemas de saúde na criança a médio e longo prazo (HENRIQUE et al., 2019; LOPES, SANTOS, CARVALHO, 2019; ORTELA, 2020). A etiologia da prematuridade é multifatorial e em alguns casos não são conhecidas e identificadas. Estudos no Brasil referem como fatores de risco o peso materno pré-gestacional baixo, idade materna aos extremos, histórico de natimorto, gestantes tabagistas, HAS, sangramento e infecção urinária, entre outros. Mesmo com os avanços conquistados na sobrevivência dos recém-nascidos devido a melhorias na atenção, a prematuridade ainda é vista como grande desafio. Associada às complicações e sequelas contribuem em até 75% da mortalidade (TUON et al., 2016).

O número de partos prematuros tem apresentado um crescente aumento nos países no decorrer dos anos, incluindo os desenvolvidos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) mostrou que aproximadamente 15 milhões dos recém-nascidos, entre os nascidos vivos no ano, são prematuros, constituindo mais de 10% do total de nascidos. Pesquisa realizada pelo Nascido no Brasil, estudo de base populacional, demonstrou que 11,5% dos prematuros estavam vinculados a parto cesariana (HENRIQUES et al., 2019).

No ano de 2016, dados do Fundo das Nações Unidas para Infância (UNICEF), indicaram que o número de óbitos infantis ocorridos no período neonatal foi de 70% no Brasil, considerada

a segunda causa de mortalidade (LOPES, SANTOS, CARVALHO, 2019). Pastro, Tosa, 2019, estimam que ocorram anualmente 13 milhões de nascidos prematuros no mundo, e que 11 milhões, (85%) dos casos sejam na África e na Ásia, e descreve que o Brasil encontra-se entre as dez nações com maior número de nascimentos prematuros, totalizando pré-termo em 9,2% dos partos registrados em 2010, valor inferior comparado ao estudo nacional de base feito em 2013, com prevalência de 11,3%, sugerindo aumento da taxa de nascimento pré-termo no país. Para Berger et al. (2016), no Brasil, o percentual variou de 5%, em 1994, a 6,6% em 2005, com aumento atualmente de 10,5%. O percentual de prematuros avaliado neste estudo de caso foi de 100%.

Ressalva-se que a gestação em pacientes portadoras de malformações uterina e/ou anomalia congênita mesmo sendo acompanhada por um profissional especializado ginecologista desde início, podem evoluir com sucesso para um parto a termo (QUINELATO et al, 2021), como também, para um parto pré-termo, como foi o caso do presente estudo.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A melhor forma de impedir ou minimizar o surgimento de intercorrências durante a gravidez é um acompanhamento integral e especializado. No caso das malformações uterinas, o diagnóstico precoce pode prevenir muitas das ocorrências relacionadas a gestação. Porém neste relato de caso, todos os cuidados foram proporcionados e, ainda assim, as gestações apresentaram intercorrências que culminou em partos pré-maturos.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN FERTILITY SOCIETY. **The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, müllerian anomalies and intrauterine adhesions.** *Fertil Steril.* v. 49, n. 6, p. 944-55, 1988.

ANTUNES, H. R. P. **Malformações uterinas - do diagnóstico ao tratamento.** Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra Mestrado Integrada em Medicina – Trabalho Final. Artigo de Revisão, Abr 2016.

AYRES, B. V. S.; DOMINGUES, R. M. S. M.; BALDISSEROTTO, M.L.; LEAL, N. P.; FILHO, F. L.; CARAMACHI, A. C. P.; MINOIA, N. P.; VIELLAS, E. F. **Avaliação do local de nascimento de recém-natos com idade gestacional inferior a 34 semanas segundo complexidade da Unidade Neonatal em maternidade à Rede Cegonha: Brasil, 2016-2017.** *Rio de Janeiro, Ciência e saúde Coletiva,* v. 26, n.3, p. 873-886, 2021.

BADALOTTI, M.; ARENT, A.; MONTEGGIA, V.; MACHADO, J.; PETRACCO, R.; PETRACCO, A. **Utero septado, duplicación del cuello y septo vaginal: informe de una**

rara. Rev Colomb Obstet Ginecol; v. 56, n. 3, p. 244-248, July|sept. 2005.

BEGUERÍA, R.; CHECA, M. Á.; CASTILLO, M.; DEL AMO, E.; CARRERAS, R. **Malformaciones Müllerianas: clasificación, diagnóstico y manejo.** Ginecología y Obstetricia Clínica. v. 10, n. 3, p. 165-169, 2009.

BERGER, A. Z.; ZORZIM, V. I.; PÔRTO, E. F.; ALFIERI, F. M. **Parto prematuro: características das gestantes de uma população da zona sul de São Paulo.** Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife, v.16, n.4, p. 437-445 out. / dez., 2016.

CHRISTIANSEN, M. E.; DETTI, L. **Clinically Relevant Female Genital Tract Anomalies.** Clin Obstet Gynecol. Mar; v. 60, n. 1, pag. 18-26, 2017.

DALL'AGNOL, J. C.; MENEGAZZO, M.; PERES, L. A. B. **SÍNDROME DE HERLYN WERNER WÜNDERLICH: RELATO DE CASO.** Revista Thêma et Scientia. v.6, n.2, p. 232-236. jul/dez, 2016.

FERREIRA, A. C.; FILHO, F. M.; NICOLAU, L. G.; GALLARRETA, F. M. P.; PAULA, W. M.; GOMES, D. C. **Ultra-sonografia tridimensional em ginecologia: malformações uterinas.** Radiol Bras, São Paulo, v. 40, n. 2, p.131-136. Mar./Apr. 2007.

HENRIQUES, L. B.; ALVES, E. B.; VIEIRA, F. M. S. B.; CARDOSO, B. B.; D'ANGELES, A. C. R.; CRUZ, O. G.; SILVA, M. F. R.; SARACENI, V. **Acurácia da determinação da idade gestacional no Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (SINASC): um estudo de base populacional.** Cad. Saúde Pública. v. 35, n. 3, e00098918, 2019.

LOPES, T. R. G.; SANTOS, V. E. P.; CARVALHO, J. B. L. **A presença do pai no método canguru.** Escola Anna Nery 23(3) 2019.

ORTEGA, N. R. G. **Parto prematuro de registros de nascidos vivos na Colômbia, período de 2008 a 2017.** Revista medica Risaralda, vol. 26, n. 2, p. 138-147. jul/ dez. 2020.

PASTRO, J.; TOSO, B. R. G. O. **Influência do oxigênio no desenvolvimento de retinopatia da prematuridade.** Rev Bras Enferm [Internet]. v. 72, n. 3, p. 623-30, 2019.

PERCOPE, F. L.; AQUINO, J. H. W. **Síndrome de Herlyn-Werner-Wunderlich: um diagnóstico que precisamos conhecer.** Adolescencia e Saúde. V. 5, n. 3, P.23-26, outubro, 2008.

QUINELATO, H.; GUZMAN, R. S. R.; FARIA, R.; QUINELATO, V. **Uterus didelphys and successful pregnancy: case reports.** Res Elet Acervo Saúde. V. 13, n.3, p.1-7, 2021.

SOUTO, M. R.; CUNHA, T. M. **Malformações Uterinas: Revisão Clínica e Imagiológica.** Acta Radiológica Portuguesa, v. XVIII, n. 71, p. 89-93, Jul-Set, 2006.

TUON, R. A.; AMBROSANO, G. M. B.; SILVA, S. M. C. V.; PEREIRA, A. C. **Impacto do monitoramento telefônico de gestantes na prevalência da prematuridade e análise dos fatores de risco associados em Piracicaba, São Paulo, Brasil.** Cad. Saúde Pública v.32, n.7, p.1-16, 2016.

# CAPÍTULO 13

## ESTUDO FITOQUÍMICO E TOXICOLÓGICO DE FOLHAS DE *Terminalia catappa* L. E FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* R.

DOI: 10.47402/ed.ep.c202172712585

**Gabriela de Cássia Javorski**, Bióloga, Mestranda em Bioenergia, Unicentro, área de concentração em Biocombustíveis

**Welligton Luciano Braguini**, Doutor em Bioquímica e Professor de Bioquímica e Biofísica, Unicentro

### RESUMO

*Terminalia catappa* Linn é uma árvore originária da Ásia e a *Schinus terebinthifolius* é uma planta nativa e amplamente distribuída pelo Brasil. Ambas se destacam por seus metabólitos secundários usados na medicina popular, entretanto, poucos estudos visaram à quantificação dos metabólitos secundários, bem como a atividade antioxidante, atrelados a testes de toxicidade usando organismos modelos alternativos. A coleta e identificação das plantas seguiram as técnicas usuais em taxonomia vegetal. A extração foi conduzida utilizando aparelho de Soxhlet por 2 horas com solvente água ou etanol:H<sub>2</sub>O (1:4 v/v). A análise toxicológica foi realizada para determinar a concentração efetiva 50 para cistos de *Artemia salina* e a concentração letal 50 para os metanauplios. A atividade locomotora de planária *Dugesia tigrina* foi realizado para verificar alteração na mobilidade. Os resultados demonstraram que o extrato de *T. catappa* apresentou 123,36 ± 13,04 e 164,56 ± 10,69 mg de ácido tânico/g de extrato para polifenóis, 58,51 ± 12,34 e 80,66 ± 14,37 mg de quercetina/g de extrato para flavonóides, e 229,15 ± 11,35 e 161,63 ± 14,95 mg de ácido ascórbico/g de extrato para atividade antioxidante para os extratos aquoso e etanólico, respectivamente. O EC<sub>50</sub> (36 h) para os cistos de *A. salina* foi de 46,9 e 33,6 mg/mL para extrato aquoso e etanólico de *T. catappa*, respectivamente. A CL<sub>50</sub> (24 h) em *A. salina* foi de 472,1 e 259,2 mg/mL para extrato aquoso e etanólico de *T. catappa*, respectivamente. A mobilidade de planária foi reduzida 47 e 54,1% na concentração de 3 mg/mL de extrato aquoso e etanólico de folhas de *T. catappa*, respectivamente. O extrato de frutos de *S. terebinthifolius* apresentou 8,07 ± 1,23 e 16,22 ± 1,71 mg de ácido tânico/g de extrato para polifenóis, 9,48 ± 0,12 e 15,07 ± 2,41 mg de quercetina/g de extrato para flavonóides, e 57,52 ± 10,03 e 63,36 ± 5,20 mg de ácido ascórbico/g extrato para atividade antioxidante para os extratos aquoso e etanólico, respectivamente. O EC<sub>50</sub> (36 h) para os cistos de *A. salina* foi de 896,8 e 95,2 mg/mL para extrato aquoso e etanólico de *S. terebinthifolius*, respectivamente. A CL<sub>50</sub> (24 h) em *A. salina* foi de 1273,1 e 536,5 mg/mL para extrato aquoso e etanólico de *S. terebinthifolius*, respectivamente. A mobilidade de planária foi reduzida 13,4 e 50,4% na concentração de 3 mg/mL de extrato aquoso e etanólico de frutos *S. terebinthifolius*, respectivamente. Os extratos em etanol:água de ambas as plantas apresentaram maior quantidade de metabólitos secundários no processo extrativo utilizado. No teste de eclosão de cistos de *A. salina* a toxicidade apresenta-se em ordem crescente: extrato aquoso de frutos de *S. terebinthifolius* < extrato etanólico de frutos de *S. terebinthifolius* < extrato aquoso de folhas de *T. catappa* < extrato etanólico de folhas de *T. catappa*. No teste de letalidade de metanauplios de *A. salina* (CL<sub>50</sub>) a ordem crescente de toxicidade foi: extrato aquoso de frutos de *S. terebinthifolius* < extrato etanólico de frutos de *S. terebinthifolius* < extrato aquoso de

folhas de *T. catappa* < extrato etanólico de folhas de *T. catappa*. O extrato de folhas de *T. catappa* se caracterizam como medianamente tóxicas, e o extrato de frutos de *S. terebinthifolius* é considerado de baixa toxicidade nos testes utilizados no estudo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Metabólitos Secundários, Extratos Vegetais, *Dugesia tigrina*, *Artemia salina*, bioquímica.

## INTRODUÇÃO

A biodiversidade animal e vegetal tem sido fonte de metabólitos primários e secundários, no desenvolvimento de substâncias com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e analgésicas relevantes para a medicina. Inúmeras moléculas, como os flavonoides, atuam no combate a ação dos radicais livres oriundos dos processos endógenos e exógenos, neutralizando-o (DIMITRIOS, 2006; KUBO et al., 2006; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996). Nesse sentido, é importante destacar plantas que apresentam potencial para aplicação no *design* de novas moléculas com atividades promissoras contra doenças.

Diferentes espécies de *Terminalia* estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, a espécie predominante é a *Terminalia catappa* Linn, uma Combretaceae, encontrada em diferentes domínios fitogeográficos como a Amazônia, a Caatinga e a Mata Atlântica (BARATELLI et al., 2012). Os metabólitos secundários, dentre eles os taninos e flavonoides, conferem importância biológica e ecológica a essa espécie vegetal, contribuindo para o interesse no uso na medicina popular e no desenvolvimento de drogas. A matéria orgânica fornecida pelas árvores promove efeitos aleloquímicos, devido aos resíduos vegetais em decomposição. A ausência de vegetação ao redor de árvores de *T. catappa* provam seu efeito alelopático (BARATELLI et al., 2012). Como um exemplo de espécie invasora, *T. catappa* altera a via evolutiva de espécies nativas por exclusão competitiva, deslocamento de nicho, hibridização, introgressão, predação e, em última instância, extinção. A flexibilidade de comportamento e interações mutualísticas podem ajudar no sucesso de invasores em seu novo ambiente, provocando um problema ambiental (LIU et al., 2020; MOONEY; CLELAND, 2001).

Outra espécie notória é *Schinus terebinthifolius* Raddi, nativa do Brasil, com alto potencial para obtenção de metabólitos secundários que podem ser utilizados para diversos fins, como controle biológico de insetos, ou para fins terapêuticos e gastronômicos. Folhas, frutos e raízes de *S. terebinthifolius* são usados em preparações na medicina popular (DA SILVA et al., 2017). Devido ao amplo uso de partes de plantas como *S. terebinthifolius* e *T. catappa*, com

propriedades medicinais, uma investigação fitoquímica, além de uma exploração da toxicidade de extratos preparados a partir de folhas e frutos destas plantas é relevante. Neste trabalho foram determinados o potencial antioxidante, a concentração de polifenóis e de flavonoides. Testes toxicológicos foram utilizados com animais invertebrados, como organismos alternativos ao uso de vertebrados. Invertebrados como a planária *Dugesia tigrina* revelaram-se fáceis de manter em laboratório, além de serem excelentes organismos para testes de toxicidade. A avaliação da toxicidade de substâncias ou extratos tem demonstrado resultados significativos e muitos destes são similares àqueles observados em vertebrados. *Artemia salina* é outro táxon muito utilizado em pesquisas toxicológica por ser de fácil manutenção e de baixo custo (BELLATTO; BRAGUINI, 2020; BRAGUINI; PIRES; ALVES, 2018; MCLAUGHLIN; ROGERS; ANDERSON, 1998; OTANG, 2013).

## REFERENCIAL TEÓRICO

No Brasil, a *T. catappa* é popularmente conhecida por *amendoeira da praia*, *castanhola*, *sete-copas*, *chapéu-de-sol*, *figueira-da-índia*, entre outros nomes. A migração e a colonização européia no Brasil, com a finalidade de colheita do Pau-Brasil foram fundamentais para a introdução desta espécie. Acredita-se que as sementes tenham sido agregadas a areia na Ásia e transportadas no lastro dos navios portugueses. Por ser uma árvore típica de regiões marítimas, suas sementes resistiram ao longo período de imersão nas águas marítimas, onde permaneceram até atingirem o solo brasileiro (IVANI et al., 2008). A *T. catappa* é rica em metabólitos secundários, o que contribui para o interesse no uso na medicina popular e no desenvolvimento de substâncias e compostos com aplicação medicinal e nutricional (CAZAROLLI et al., 2008; DE MESQUITA et al., 2009; LEITÃO et al., 2009). Destaca-se seu uso como fitoterápico no combate a diversas doenças (ABIODUN et al., 2016) A produção de chás a partir das folhas é comumente empregado para prevenir tumores no fígado, e no tratamento da hepatite, diabetes e cefaléia (DOS SANTOS; LORENZO; LANNES, 2016; PAWAR; PAL, 2002). As folhas, casca e frutos têm sido utilizados para fins antidiarréicos, antipirético e hemostático (LIN, 1999). Extratos de frutos de *T. catappa* exibiram atividades anti-hiperglicêmicas significativas em ratos com diabetes induzida por aloxana. Esses extratos mostraram melhora em parâmetros como peso corporal e perfil lipídico, bem como regeneração de células beta-pancreáticas (NAGAPPA et al., 2003). Outras atividades medicinais relevantes, como ação antiinflamatória (FAN et al., 2004), antitumoral (CHEN et al., 2000; LIU et al., 1996), antiviral (TANAKA; NONAKA; NISHIOKA, 1986) e antimicrobiano, e no combate a microrganismos patogênicos

tais como: *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* contribuindo no tratamento de feridas, queimaduras e infecções de pele, foram relatados (BABAYI et al., 2005; FAN et al., 2004). Pesquisas realizadas em ratos apontam que as sementes são consideradas afrodisíacas e podem auxiliar no tratamento de disfunção sexual (RATNASOORIYA; DHARMASIRI, 2000).

As aroeiras são espécies comuns encontradas em quase todo território brasileiro e pertencem a família Anacardiaceae. No Brasil existem 14 gêneros e 55 espécies, sendo 16 destas restritas ao país (PIRANI; DA SILVA-LUZ, 2018). Este grupo botânico é muito representativo no aspecto econômico, pois muitos de seus integrantes são usados na agricultura, para ornamentação e na medicina popular (FENNER et al., 2006). Entretanto, alguns gêneros causam dermatite. Segundo Mitchell (1990) a dermatite está associada as resinas liberadas pelo vegetal, como os compostos fenólicos e catecólicos ou a mistura destes (MITCHELL, 1990). Todavia a família é bastante diversa quanto a seus metabólitos secundários, o que estimula a busca por princípios bioativos (CORREIA; DAVID; DAVID, 2006). A *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma árvore de porte médio, cujos frutos vermelhos apresentam metabólitos secundários com ação medicinal, com destaque para as propriedades adstringentes, antidiarréica, antiinflamatória, depurativa, diurética e febrífuga (BRANDÃO et al., 2006; CARLINI et al., 2010; DE MENDONÇA ROCHA et al., 2012; MEDEIROS et al., 2007). Alguns trabalhos relatam a presença de metabólitos secundários com propriedades contra patógenos como *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (SILVA; OLIVEIRA; LIMA, 2015). Santos et al. (2020) verificou que quando aplicado em alimentos na concentração de 0,5% de óleo essencial de frutos de *S. terebinthifolius* não há crescimento de *S. aureus* (SANTOS et al., 2020). A presença de  $\alpha$ -pineno na aroeira demonstrou reduzir o número de nódulos de tumores pulmonares em um modelo experimental de melanoma metastático (MATSUO et al., 2011). Os frutos de *S. terebinthifolius* também são usados como condimento alimentar, sua aparência e sabor levemente picante despertam o interesse gastronômico no Brasil e internacionalmente (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; DOS SANTOS, 2004).

## **MODELOS ANIMAIS INVERTEBRADOS UTILIZADOS NOS TESTES TOXICOLÓGICOS**

Neste trabalho foram utilizados organismos invertebrados de fácil manutenção e reprodução para avaliação de toxicidade. Destaca-se a importância em utilizar invertebrados para avaliar a toxicidade de plantas medicinais, uma vez que muitos dos efeitos observados são similares àqueles observados em vertebrados. A planária tem sido utilizada para investigar a

toxicidade de compostos há mais de um século. O objetivo de se avaliar o comportamento da planária na presença de extratos vegetais se fundamenta nos inúmeros trabalhos na área toxicológica, farmacológica e bioquímica, através da observação de alterações no metabolismo desses organismos e das mudanças na mobilidade e em comportamentos estereotipados identificáveis em planárias (CALLEJA; GELADI; PERSOONE, 1994; OUYANG et al., 2017; RAWLS et al., 2011).

Outra espécie com aplicação na área toxicológica é o microcrustáceo *Artemia salina*, pertencente ao filo Arthropoda, classe Crustácea, subclasse Branquiopoda, ordem Anostraca, família Artemidae, gênero *Artemia*, espécie *Artemia salina* – Linnaeus, 1758 (ASEM; RASTEGAR-POUYANI; DE LOS RÍOS-ESCALANTE, 2010). Este táxon comumente vive em águas salgadas, sendo bem adaptada a condições de alta salinidade variando sua forma de reprodução para garantir a sobrevivência da espécie. Em condições normais a fêmea libera uma cápsula ou cisto, que eclode e libera o nauplio, todavia quando o ambiente está inapropriado, os cistos não eclodem numa tentativa de proteger os filhotes das alterações na composição do meio. Esta espécie foi introduzida no Brasil na década de 1970, e atualmente é utilizada para diversas finalidades científicas (ASEM; RASTEGAR-POUYANI; DE LOS RÍOS-ESCALANTE, 2010). A eclosão de cistos de *Artemia salina* é um método útil para se testar a toxicidade de xenobióticos, incluindo compostos orgânicos, extratos de plantas e metais (HIROTA et al., 2012; MCLAUGHLIN; ROGERS; ANDERSON, 1998; OTANG, 2013).

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **COLETA DO MATERIAL VEGETAL**

O material vegetal utilizado no estudo foi coletado nos meses de março e outubro de 2019 em locais distintos. As folhas de *T. catappa* nas proximidades da cidade de Maringá-PR (23° 38'23"S 51°35'35"W 630 m), e os frutos maduros de *S. terebinthifolius* na Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro), *campus* Cedeteg, Guarapuava-PR (25° 23'08"S 51°29'10"W 1.038 m), seguindo as técnicas de coleta para taxonomia vegetal. Após a identificação e confecção das exsiccatas o material foi depositado no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba e a *T. catappa* e a *S. terebinthifolius* receberam os seguintes números de vouchers: 361690 e 370623, respectivamente.

## DETERMINAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO

Os frutos de *S. terebinthifolius* e as folhas de *T. catappa* coletadas foram lavados em água destilada, e após secarem a temperatura ambiente foram submetidas a processo de secagem a 40°C em estufa por 3 dias. Em seguida as folhas e os frutos foram triturados em moedor, tipo moinho de facas, até obtenção de um pó com granulometria média de 0,5 mm. Para o processo extrativo foi utilizado o Soxhlet por 2 horas para cada material vegetal. Nesse processo foram utilizados 5 g do pó das folhas ou dos frutos e 250 mL de solvente água ou etanol:água (1:4 v/v). A extração foi realizada a  $100 \pm 3$  °C.

## DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a avaliação da atividade antioxidante pela redução do complexo fosfomolibdênio utilizou-se a técnica de Prieto et al. (1999). Este complexo é formado pela reação da solução de fosfato de sódio monobásico (28 mL 0,1 M), solução de molibdato de amônio (12 mL 0,03 M) e de uma solução de ácido sulfúrico (20 mL 3 M), em meio aquoso, sendo o volume final, ajustado com água destilada para 100 mL (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999). Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico/g de extrato.

## DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS

O conteúdo de polifenóis foi determinado segundo a metodologia de Skerget et al., (2005) com algumas modificações. A 0,5 mL do extrato da planta utilizada, 2,5 mL de reagente de Folin–Ciocalteu 10% (v/v) foi adicionado, seguido pela adição de 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% (p/v), e então misturado em vortex por 5 minutos e incubado a temperatura ambiente (29 °C) no escuro por 1 h, seguido pela leitura da absorbância em 760 nm (ŠKERGET et al., 2005). Os resultados foram expressos em mg ácido tânico/g de extrato.

## DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES

Os níveis de flavonoides totais no extrato foram mensurados por método colorimétrico em 510 nm (ARVOUET-GRAND et al., 1994). Resumidamente, um volume de 75 µL AlCl<sub>3</sub> 2% em metanol misturado com igual volume do extrato na concentração de 1 mg/mL diluído em metanol. A absorbância foi medida após 10 minutos. Uma mistura de 75 µL do extrato e 75 µL de metanol sem adição de AlCl<sub>3</sub> foi utilizado como branco. Os resultados foram expressos em mg de quercetina/g de extrato.

## **OBTENÇÃO E MANUTENÇÃO DE CISTOS E LARVAS DE *ARTEMIA SALINA* LEACH**

Os cistos de *A. salina* foram obtidos da Sanders<sup>TM</sup> Great Salt Lake (Brine Shrimp Company L.C. EUA). Os cistos apresentaram excelente qualidade como constatado pela alta percentagem de eclosão média dos controles ( $97 \pm 3\%$ ). A eclosão de *A. salina* para obtenção dos metanauplios de fase larvar II e III, foram obtidos com a adição de 5 g de cistos de *A. salina* em 2 litros de água destilada contendo NaCl 38 g/L, pH  $8,3 \pm 0,2$ , e mantido em condição de 12 horas de luz e 12 h de escuro na temperatura de  $26 \pm 2$  °C.

## **DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO EFETIVA CINQUENTA (EC<sub>50</sub>) PARA ECLOSÃO DE CISTOS DE *ARTEMIA SALINA* NA PRESENÇA DOS EXTRATOS**

Com o auxílio de uma lupa (estereomicroscópio Olympus<sup>®</sup>) e de uma agulha longa acoplada a uma pipeta Pasteur, foram adicionados 10 cistos de *A. salina* em cada tubo de ensaio contendo 5 mL de água. As concentrações testadas do extrato aquoso e etanólico de folhas de *T. catappa* variaram de 5 a 350 µg/mL. Para o extrato aquoso e etanólico de frutos de *S. terebinthifolius* foi utilizado concentrações de 50 a 1500 µg/mL. Para o controle positivo foi utilizado o dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) na concentração de 1000 µg/mL, que inibe completamente a eclosão dos cistos, e como controle negativo foi utilizado água salgada (38 g/L) (BRAGUINI; PIRES; ALVES, 2018; MEYER et al., 1982). Após 24, 36, 48, 60 e 72 h foi determinada o quantitativo de eclosão.

## **DETERMINAÇÃO DA CL<sub>50</sub> EM *ARTEMIA SALINA***

A avaliação da toxicidade de nauplios de *A. salina* foi realizada segundo metodologia descrita por McLaughlin, Rogers, Anderson (1998). Para o teste de Concentração Letal 50 [CL<sub>50</sub> (24 h)] foram coletadas, utilizando uma micropipeta de 200 µL, 10 metanauplios de *Artemia salina* após 48 h de incubação dos cistos e adicionados ao volume para perfazer 5 mL de água salina. Os extratos de *T. catappa* e *S. terebinthifolius* foram diluídos em água salina de maneira que apenas 100 µL das diluições foram utilizadas para perfazer os 5 mL de solução nos tubos de ensaio testes. Os tubos foram mantidos sob luz artificial e temperatura de  $26 \pm 2$  °C por um período de 12 horas de claro/12 horas de escuro totalizando 24 h. Após esse período, efetuou-se a contagem do número de náuplios sobreviventes. O teste foi realizado em triplicata em um total de 5 experimentos independentes.

## PREPARO E MANUTENÇÃO DE *DUGESIA TIGRINA* EM LABORATÓRIO

As planárias utilizadas para os testes de comportamento foram mantidas em água para planárias (AP) preparada a partir de água destilada contendo 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM MgSO<sub>4</sub>, 0,5 mM KCl, 8 mM NaCl, e 6 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 7,0 (ARNOLD et al., 2016; SHIROOR; BOHR; ADLER, 2018). As planárias foram alimentadas uma vez por semana com fígado bovino cortado em cubos e a água foi trocada duas vezes por semana logo após a alimentação.

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DE *DUGESIA TIGRINA*

A hipótese de que as planárias poderiam diminuir ou aumentar a velocidade de locomoção quando expostas as diferentes concentrações dos extratos foi testada de acordo com a metodologia de Raffa et al. (2001) e Raffa e Valdez (2001) (RAFFA; HOLLAND; SCHULINGKAMP, 2001; RAFFA; VALDEZ, 2001). Uma única planária foi colocada dentro de uma placa de Petri padrão de 6 cm de diâmetro sobre uma folha de papel milimetrado (0,5 cm<sup>2</sup>) (SACAVAGE et al., 2008). A mobilidade foi avaliada na presença dos extratos de *S. terebintipholius* e *T. catappa* em concentrações de 0,5 a 3,0 mg/mL. O controle negativo foi constituído de água para planária e o controle positivo foi cafeína 5 µM (MOUSTAKAS et al., 2015).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de 5 experimentos em triplicata. Para os testes de CL<sub>50</sub>, CE<sub>50</sub> em *A. salina* foi utilizado o método do *Probit*, e para a determinação da velocidade de locomoção de *D. tigrina* foi utilizado a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey para verificar as diferenças entre os tratamentos para  $p < 0,05$ . A análise estatística foi realizada utilizando o GraphPad Prism<sup>®</sup> versão 8 para Windows<sup>®</sup>, GraphPad Software<sup>®</sup>, San Diego, California, EUA.

## RESULTADOS

### DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS

A Tabela 1 mostra os resultados para a concentração total de polifenóis, flavonoides e a atividade antioxidante das folhas de *T. catappa* (em mg/g do extrato). Os resultados demonstraram que a concentração de polifenóis foi 25% menor no extrato aquoso comparado ao extrato etanólico. A concentração de flavonoides foi 27,5% menor no extrato aquoso

comparado ao extrato etanólico. A atividade antioxidante obtida foi 29% maior no extrato aquoso comparado ao extrato etanólico. Devido à presença de flavonóides e outros compostos fenólicos, esta planta possui forte atividade antioxidante e que contribui para proteger as células contra danos oxidativos causados pelos radicais livres nas células.

**Tabela 1.** Polifenóis, flavonoides e atividade antioxidante do extrato aquoso e etanol:água (1:4 v/v) de folhas de *Terminalia catappa* Linn.

	Aquoso	Etanol: água (1:4)	Equação linear
<b>Polifenóis (mg ácido tânico/g de extrato)</b>	123,36 ± 13,04	164,56 ± 10,69	y=0,0121x - 0,0162 R <sup>2</sup> =0,9894
<b>Flavonóides (mg quercetina/g extrato)</b>	58,51 ± 12,34	80,66 ± 14,37	y=0,0032x+0,037 R <sup>2</sup> =0,9762
<b>Atividade Antioxidante (mg de ácido ascórbico/g de extrato)</b>	229,15 ± 11,35	161,63 ± 14,95	y=0,0283x - 0,0126 R <sup>2</sup> =0,9937

Dados representam a média e o desvio padrão de 5 experimentos em triplicata.

**Fonte:** Do autor.

A Tabela 2 expressa os resultados para a concentração total de polifenóis, flavonoides e a atividade antioxidante dos frutos de *S. terebinthifolius*. O conteúdo fenólico total foi 50% maior no extrato etanólico comparado ao extrato aquoso. A concentração de flavonóides no extrato etanólico foi 37% maior comparado ao extrato aquoso. A atividade antioxidante dos extratos de frutos de *S. terebinthifolius* foi 9% menor no extrato aquoso comparado ao extrato etanólico.

**Tabela 2.** Polifenóis, flavonoides e atividade antioxidante do extrato aquoso e etanol:água (1:4 v/v) de frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

	Aquoso	Etanol: água (1:4)	Equação linear
<b>Polifenóis (mg ácido tânico/g de extrato)</b>	8,07 ± 1,23	16,22 ± 1,71	y=0,0121x + 0,0162 R <sup>2</sup> =0,9894
<b>Flavonóides (mg quercetina/g extrato)</b>	9,48 ± 0,12	15,07 ± 2,41	y=0,0032x + 0,037 R <sup>2</sup> =0,9762
<b>Atividade Antioxidante (mg de ácido ascórbico/g de extrato)</b>	57,72 ± 10,03	63,36 ± 5,20	y=0,0283x - 0,0126 R <sup>2</sup> =0,9937

Dados representam a média e o desvio padrão de 5 experimentos em triplicata.

**Fonte:** do autor.

Embora tenha sido observado diferenças significativas na concentração de substâncias antioxidantes entre os extratos das plantas avaliadas, pode-se afirmar que ambas os extratos (aquoso e etanólico) apresentam atividade antioxidante significativa e são importantes no combate a radicais livres. Cascas e folhas de *S. terebinthifolius* são utilizadas para casos de inflamação bucal (SANTOS et al., 2009), cicatrização de feridas, além de ser uma planta para úlcera e tosse, como anticaspa, dor de garganta, asma (BENDAOU et al., 2010; BOSCOLO et al., 2007; MEGA et al., 2011; MOURA-COSTA et al., 2012). O uso vaginal do extrato de aroeira, entretanto, pode causar efeitos adversos, como ardor e queimação, e seu uso é contraindicado em mulheres grávidas devido a malformação óssea induzida em filhotes de ratas após administração oral do extrato de aroeira (ALBERTASSE; THOMAZ; ANDRADE, 2010; DE ALBUQUERQUE et al., 2007; LEITÃO et al., 2009; SANTOS et al., 2009). As folhas, frutos e raízes de *T. catappa* são utilizadas na fitoterapia como antidiabética (Nagappa et al., 2003), antiinflamatória (FAN et al., 2004), antibiótica e antifúngica (GOMES et al., 2010; JOHANN et al., 2010).

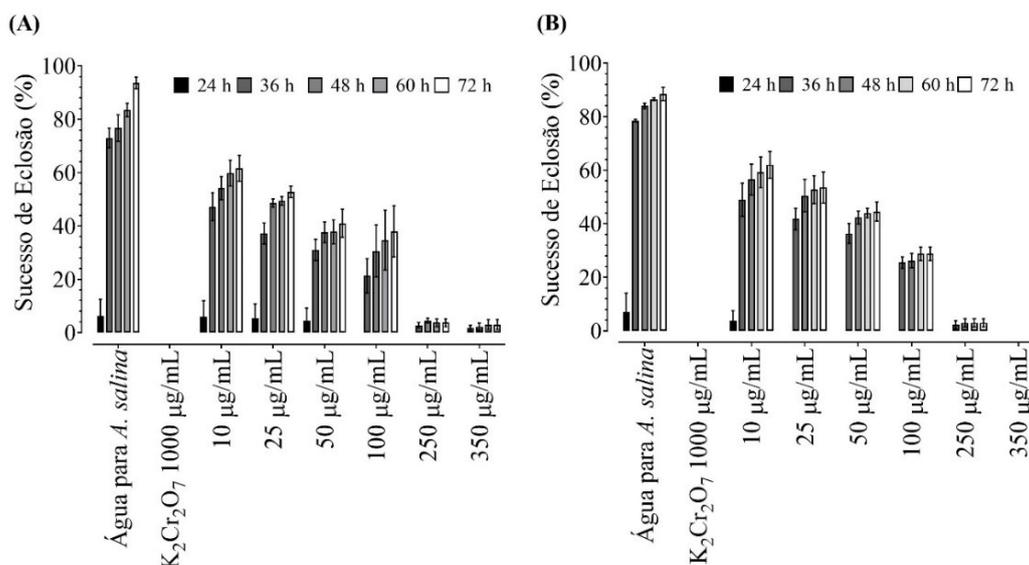
#### **DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO EFETIVA CINQUENTA [EC<sub>50</sub> (36 H)] DE INIBIÇÃO DA ECLOSÃO DE CISTOS DE *A. SALINA***

Na avaliação de toxicidade para os cistos de *A. salina*, observou-se que o sucesso de eclosão do grupo controle negativo foi de 93% após 72 h de incubação (Figura 1A). A taxa de eclosão foi de 61% a 3%, para as concentrações 10 a 350 µg/mL do extrato aquoso de *T. catappa*, respectivamente. Para o extrato etanólico observou-se taxa de eclosão de 94% para o controle negativo após 72 h de incubação. Nas concentrações 10 a 350 µg/mL do extrato etanólico observou-se de 62% a 0% de eclosão, respectivamente (Figura 1B). A menor concentração (10 µg/mL) apresentou a maior porcentagem de sucesso de eclosão em 72 h na presença de extrato. Nas concentrações mais altas (250 e 350 µg/mL) houve uma inibição mais drástica da eclosão, onde o sucesso de eclosão foi extremamente baixo (0 e 3% de eclosão para 350 µg/mL de extrato aquoso e etanólico, respectivamente) após 72 h de incubação.

Cistos de *A. salina* na presença de extrato aquoso de *Schinus terebinthifolius* apresentou maior sucesso de eclosão em praticamente todas as concentrações, com pequena redução na concentração de 1500 µg/mL (Figura 2 A). O teste com extrato aquoso de frutos de *S. terebinthifolius* demonstrou 92% de eclosão após 72 h de incubação para o controle negativo. A taxa de eclosão variou de 67% até 38%, para as concentrações 50 até 1500 µg/mL do extrato aquoso de *S. terebinthifolius*, respectivamente. Para o extrato etanólico observou-se taxa de

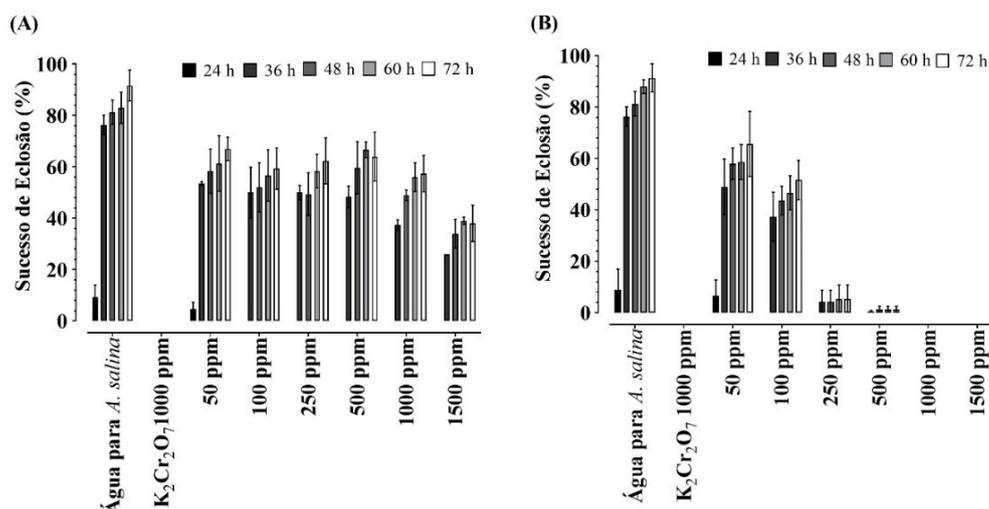
eclosão de 91% para o controle negativo após 72 h de incubação. Nas concentrações 50 até 1500  $\mu\text{g/mL}$  do extrato etanólico observou-se 66% até 0% de eclosão, respectivamente (Figura 2 B). Com o extrato etanólico a eclosão dos cistos de *A. salina* apresentou redução acentuada nas concentrações maiores de 250  $\mu\text{g/mL}$ , apenas 1% de eclosão foi observado no tempo 72h, e não houve eclosão nas concentrações de 1000 e 1500  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 2 B).

**Figura 1:** Eclosão de cistos de *A. salina* na presença de extrato aquoso (A) e etanólico (B) de folhas de *T. catappa catappa*.



Fonte: do autor.

**Figura 2:** Eclosão de cistos de *A. salina* na presença de extrato aquoso (A) e etanólico (B) de folhas de *S. terebinthifolius*.



Fonte: do autor.

Através do cálculo do *Probit* foi obtido o valor da concentração efetiva cinquenta [ $CE_{50}$  (36 h)] para eclosão dos cistos de *A. salina*. A  $CE_{50}$  (36 h) para o extrato aquoso e etanólico de

folhas de *Terminalia catappa* foi de: 46,9 µg/mL e 33,6 µg/mL, respectivamente. Para *S. terebinthifolius* obteve-se 896,8 µg/mL para o extrato aquoso, e 95,2 µg/mL para o extrato etanólico. De acordo com os dados obtidos pelo *Probit*, foi possível classificar os extratos de acordo com a toxicidade para eclosão dos cistos de *A. salina*: extrato etanólico das folhas de *T. catappa* > extrato aquoso das folhas de *T. catappa* > extrato etanólico dos frutos de *S. terebinthifolius* > extrato aquoso dos frutos de *S. terebinthifolius*.

### DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL CINQUENTA [CL<sub>50</sub> (24 H)] EM *ARTEMIA SALINA*

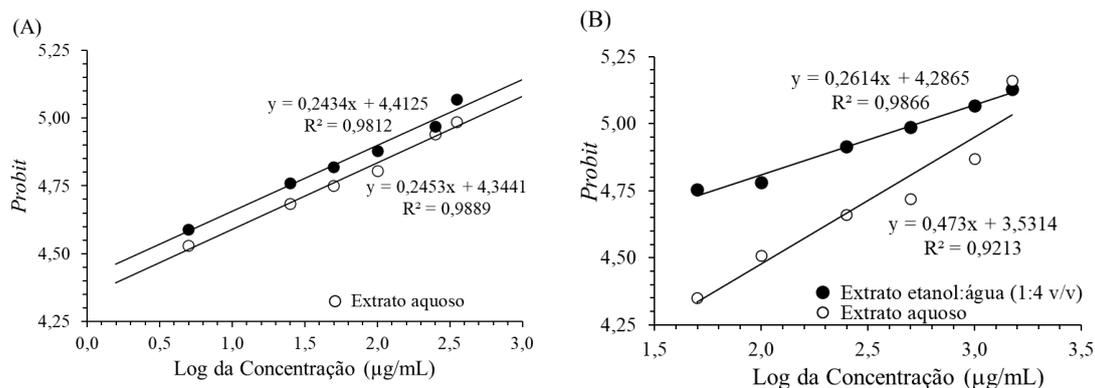
A CL<sub>50</sub> do extrato etanólico foi 1,8 vezes menor que o extrato aquoso das folhas de *Terminalia catappa* (Tabela 3 e Figura 3A e B). Ambos são considerados com toxicidade moderada para *A. salina* de acordo com o critério de toxicidade de Clarkson et al., (2004). A CL<sub>50</sub> do extrato etanólico foi 2,3 vezes menor do que o extrato aquoso dos frutos de *Schinus terebinthifolius*. De acordo com a tabela 3 e figuras 3A e B, o extrato aquoso foi considerado sem toxicidade, e o extrato etanólico de baixa toxicidade de acordo com o critério de Clarkson et al., (2004).

**Tabela 3:** Concentração Letal Cinquenta (CL<sub>50</sub>) dos extratos aquoso e etanólico de folhas de *T. catappa* e frutos de *S. terebinthifolius*.

	Aquoso (µg/mL)	Etanólico (µg/mL)
<i>T. catappa</i>	472,1	259,2
<i>S. terebinthifolius</i>	1273,1	536,5

Fonte: do autor.

**Figura 3:** Probit para obtenção da CL<sub>50</sub> dos extratos aquoso e etanólico de folhas de *T. catappa* (A) e frutos de *S. terebinthifolius* (B).



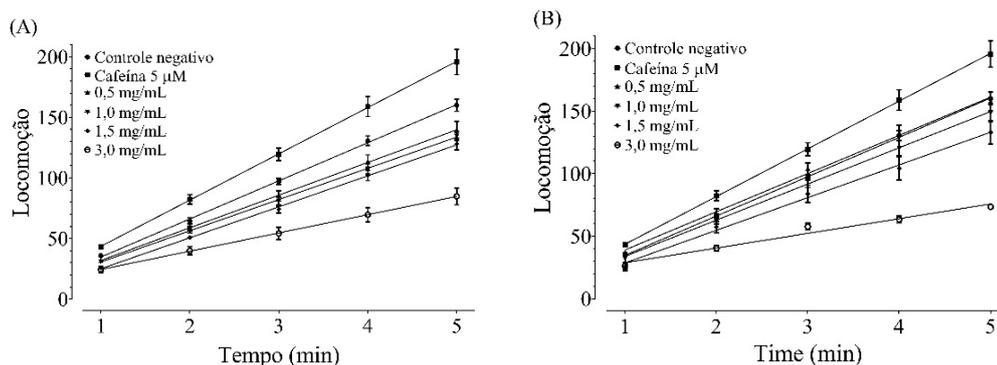
Fonte: do autor.

## AVALIAÇÃO DA VELOCIDADE DE LOCOMOÇÃO DE PLANÁRIA *DUGESIA TIGRINA*

Neste experimento avaliou-se a atividade locomotora da planária *Dugesia tigrina* frente a diferentes concentrações do extrato aquoso e etanólico de folhas de *T. catappa* e *S. terebinthifolius* durante 5 minutos (Figura 4 e 5). A análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey demonstrou uma diminuição de 8,8% a 47% na atividade locomotora de planária nas concentrações utilizadas de 0,5 até 3,0 mg/mL do extrato aquoso de folhas de *T. catappa* comparadas ao controle negativo no tempo 5 minutos ( $p < 0,05$ ), respectivamente (Figura 4A). Na concentração de 3 mg/mL a mobilidade foi significativamente reduzida a partir do 2º minuto do teste ( $p < 0,01$ ), seguido pelo 3º minuto ( $p < 0,001$ ), 4º minuto ( $p < 0,001$ ) e 5º minuto ( $p < 0,001$ ). Na avaliação do extrato etanólico foi observado uma redução na atividade locomotora de planárias em todas as concentrações testadas do extrato etanólico de folhas de *T. catappa* comparadas ao controle negativo no tempo 5 minutos. A redução da mobilidade planariana na concentração de 3,0 mg/mL de extrato etanólico de *T. catappa* foi de 54,1% (Figura 4B). Porém, a redução da mobilidade foi significativa a partir da concentração de 1,5 mg/mL do extrato etanólico em relação ao controle negativo [4º minuto ( $p < 0,05$ ) e 5º minuto ( $p < 0,01$ )]. Outro dado importante sobre este parâmetro diz respeito ao número de linhas cruzadas em média dentro de cada minuto. A média no controle negativo foi de  $34,5 \pm 3$  linhas cruzadas/minuto, enquanto que foi de  $26,9 \pm 4$ ,  $25,9 \pm 2$ ,  $25,5 \pm 4$  e  $15,1 \pm 4$  linhas cruzadas/minuto nas concentrações 0,5, 1,0, 1,5 e 3,0 mg/mL de extrato aquoso, respectivamente, e  $30,2 \pm 4$ ,  $29,1 \pm 3$ ,  $26,8 \pm 3$  e  $11,8 \pm 2$  linhas cruzadas/minuto nas concentrações 0,5, 1,0, 1,5 e 3,0 mg/mL de extrato etanólico, respectivamente. O controle positivo com cafeína serviu como controle positivo e apresentou uma média de  $41,2 \pm 3$  linhas cruzadas/minuto (Figura 4B).

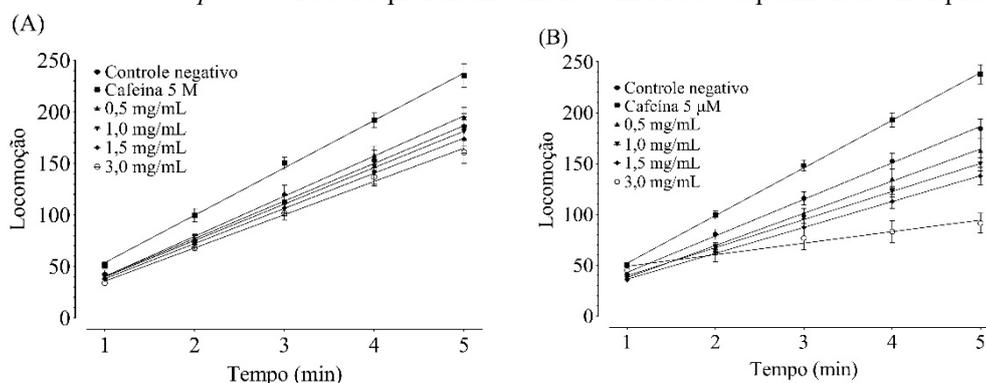
A avaliação da atividade locomotora da planária com o extrato aquoso de frutos de *S. terebinthifolius* (Figura 5A) não apresentou diferença significativa na mobilidade das planárias nas concentrações testadas ( $p > 0,05$ ). Com o extrato etanólico de *S. terebinthifolius* (Figura 5B) foi observado uma diminuição significativa na mobilidade de 19% ( $p < 0,01$ ), 25,3% ( $p < 0,001$ ) e 50,4% ( $p < 0,001$ ) nas concentrações de 1,0, 1,5 e 3,0 mg/mL, respectivamente.

**Figura 4:** Locomoção de planárias expostas durante 5 minutos aos extratos aquoso (A) e etanol:H<sub>2</sub>O (1:4 v/v) (B) de *Terminalia catappa*. Dados representam a média ± EPM de 5 experimentos em triplicata.



Fonte: Do autor.

**Figura 5:** Locomoção de planárias expostas durante 5 minutos aos extratos aquoso (A) e etanol:H<sub>2</sub>O (1:4 v/v) (B) de *Schinus terebinthifolius*. Dados representam a média ± EPM de 5 experimentos em triplicata.



Fonte: Do autor.

## DISCUSSÃO

Polifenóis e flavonoides de folhas de *T. catappa* foram encontrados em quantidades relativamente altas no extrato aquoso e etanólico, similares aos obtidos por Mininel et al. (MININEL et al., 2014). Todavia a atividade antioxidante foi superior no extrato aquoso, corroborando com Marques et al. (MARQUES et al., 2012). Estes achados são importantes pois revelam a grande concentração de moléculas antioxidantes naturais.

O extrato etanólico dos frutos de *S. terebinthifolius* apresentaram valores superiores quanto à quantidade de polifenóis, flavonóides e maior atividade antioxidante, quando comparado com os valores do extrato aquoso, entretanto os valores foram inferiores aos obtidos para o extrato aquoso e etanólico de folhas de *T. catappa*. Segundo Degáspari et al., os frutos da aroeira-vermelha apresentam baixo teor de compostos fenólicos quando comparados a outros vegetais, tal como evidenciado no presente estudo (Degáspari et al., 2004). Agostini-Costa et al. afirma que a metodologia de extração é um fator limitante para a quantificação de compostos

bioativos dos vegetais (AGOSTINI-COSTA; LIMA; VICTOR LIMA, 2003). Degaspari et al. (2004) explica que os compostos fenólicos da aroeira podem ser influenciados quanto à exposição à luz, pois segundo ele a concentração de flavonoides é menor em partes sombreadas, todavia os frutos usados neste estudo estavam em galhos mais baixos e de muita sombra, fator que facilitou a coleta, e, portanto, justifica os valores encontrados. Por outro lado, Chen (2000) afirma que aroeira é composta majoritariamente de taninos hidrolisáveis que, de acordo com Moure (2001) torna este táxon possuidor de alta capacidade antioxidante, o que explica os maiores valores encontrados no extrato aquoso comparado ao etanólico (MOURE et al., 2001).

A análise do sucesso de eclosão dos cistos de *A. salina* em resposta ao tempo de exposição revelou um maior sucesso de eclosão após 36-48 horas, sendo este o tempo médio de eclosão segundo Meyer et al., (1982). Os maiores valores são vistos quando os cistos estão em água salina (controle negativo). Todavia quando em contato com o extrato aquoso de *T. catappa* percebe-se uma redução gradual com o aumento da concentração. As concentrações maiores indicaram uma porcentagem de eclosão inferior a 10 %, e isto pode ter sido ocasionado pela presença de compostos fenólicos. O extrato etanólico demonstrou uma toxicidade superior ao extrato aquoso, pois na maior concentração (350 µg/mL) não foi observada nenhuma eclosão. O extrato de folhas de *T. catappa* foi considerado de toxicidade moderada pelo critério de toxicidade de Clarkson et al. (2004). Além disso, a partir dos dados obtidos, pode-se afirmar que quando cistos de *A. salina* foram expostos ao extrato aquoso ou etanólico, a taxa de eclosão foi muito mais suscetível que a mortalidade, com valores de EC<sub>50</sub> (36 h) pelo menos 10 e 8 vezes inferiores aos valores das CL<sub>50</sub> obtidas, respectivamente. O menor sucesso de eclosão observado na presença de extrato de folhas de *T. catappa* resultam da resistência dos cistos à eclosão em resposta a presença de concentrações maiores de metabólitos secundários, presentes nas frações aquosa e etanólica.

Já o extrato aquoso de *S. terebintifolius* apresentou maior porcentagem de eclosão, não sendo tóxico para *A. salina*, pois mesmo na presença da concentração de 1500 µg/mL, 35% dos cistos eclodiram. Porém o extrato etanólico demonstrou total ausência de eclosão nas concentrações de 1000 e 1500 µg/mL, e esta diferença se justifica pelo maior poder de arraste do solvente etanol usado na extração, obtendo-se um extrato mais concentrado em determinados constituintes ou metabólitos secundários do que o extrato aquoso. Controles com etanol em volume correspondente as maiores concentrações utilizadas dos extratos foram realizados e não apresentaram diferenças em relação aos controles negativos.

Os valores estimados para a  $CL_{50}$  do extrato aquoso das folhas de *T. catappa* foi de 1,8 vezes maior em comparação ao extrato etanólico. Estes valores denotam toxicidade moderada dos extratos aquoso e etanólico de folhas de *T. catappa* em metanauplios de *A. salina*. A taxa de mortalidade observada com o aumento das concentrações do extrato aquoso e etanólico das folhas de *T. catappa* pode ser atribuído à diminuição do oxigênio no meio, o qual foi direcionado a degradação da matéria orgânica da planta, reduzindo a disponibilidade do oxigênio para o microcrustáceo, e também a presença de compostos que alteram o pH, sendo esses, principalmente, os taninos. Baratelli (2012) sugere que a atividade toxicológica deste táxon esteja vinculada a existência de ácidos vanílico, siríngico, ferúlico, p-cumárico, esteárico e palmítico, da 2-pentadecanona e do  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glicosídeo, os quais podem ser influenciados pela sazonalidade, já que há maior produção nas folhas no mês de janeiro, auge do verão, entretanto o material utilizado nesta pesquisa foi coletado no último dia do mês de março, o que sustenta a observação de não ser considerado como altamente tóxico (BARATELLI et al., 2012).

A toxicidade do extrato aquoso e etanólico de folhas de *T. catappa* é maior para os cistos de *A. salina* comparado com os metanauplios. Isso fica claro quando se analisa os valores obtidos de  $CE_{50}$  e  $CL_{50}$ . O extrato etanólico foi 10 vezes mais tóxico para os cistos [ $CE_{50}$  (36 h)] do que o extrato aquoso comparado ao valor de  $CL_{50}$  (24 h). O extrato etanólico foi 8 vezes mais tóxico para os metanauplios [ $CE_{50}$  (36 h)] do que o extrato aquoso comparando ao valor de  $CL_{50}$  (24 h). Essa comparação também foi realizada para os extratos de *S. terebentifolius*. O extrato etanólico foi 1,4 vezes apenas mais tóxico para os cistos de *A. salina* [ $CE_{50}$  (36 h)] comparada ao valor da  $CL_{50}$  (24 h) para metanauplios. Enquanto que o extrato etanólico foi 5,6 vezes mais tóxico para cistos de *A. salina* [ $CE_{50}$  (36 h)] comparada ao valor da  $CL_{50}$  (24 h) para metanauplios.

Em relação aos frutos de *S. terebentifolius* é relevante destacar o estudo de Jesus e Monteiro-Filho (2007), que estudou a frugivoria e a dispersão de sementes de *S. terebentifolius* no Parque Estadual de Vila Velha, município de Ponta Grossa, Estado do Paraná. Estes autores sugerem que os frutos desta planta constituem um importante recurso alimentar para a avifauna da região, desempenhando relevante papel no balanço energético e nutricional dos filhotes de algumas espécies de aves e sendo um item complementar na dieta de aves migratórias (JESUS; MONTEIRO-FILHO, 2007). Como observado, pelos valores obtidos de  $CE_{50}$  e  $CL_{50}$ , o extrato dos frutos de *S. terebinthifolius* não apresenta risco de toxicidade de grande amplitude, sendo

seus frutos utilizados como alimento pelas aves. Embora, a toxicidade do extrato seja maior para os cistos, pelo observado nos valores de  $CE_{50}$  ser 1,4 vezes menor que o valor de  $CL_{50}$  para o extrato aquoso, e a  $CE_{50}$  ser 5,6 vezes menor que o valor do  $CL_{50}$  para o extrato etanólico de frutos de *S. terebinthifolius*.

No teste de locomoção observou-se uma diminuição gradual da locomoção com relação à concentração com ambos os extratos e solventes utilizados no estudo. Todavia nota-se uma variação relacionada ao tipo de solvente utilizado para extração. As concentrações de 0,1, 0,5 e 1,5 mg/mL repercutiram em uma frequência locomotora bastante similar de aproximadamente 120 linhas cruzadas até o 5º minuto, entretanto a concentração de 3,0 mg/mL houve uma redução expressiva, tendo 60 linhas cruzadas no mesmo período de tempo para o extrato aquoso de folhas de *T. catappa*. A concentração de 3,0 mg/mL de extrato de folhas de *T. catappa* também causou uma maior redução na locomoção. Apenas 50 linhas cruzadas ao final do tempo total do experimento. Comparando ambos os resultados, tem-se que o extrato etanólico de folhas de *T. catappa* com maior influência na redução da atividade motora da planária *D. tigrina*.

A *S. terebinthifolius* é utilizado no combate a diversos microrganismos patogênicos (SANTOS et al., 2020; SILVA; LIMA, 2016) que afetam o ser humano. O extrato aquoso dos frutos de *S. terebinthifolius* não apresentou alteração significativa na mobilidade da planária até a concentração de 3,0 mg/mL. Já o extrato etanólico apresentou redução significativa na atividade locomotora de planária nas concentrações de 1,0, 1,5 e 3,0 mg/mL. Na avaliação da mobilidade de planária foi utilizado concentrações que variaram de 0,5 a 3,0 mg/mL, baseado em avaliações preliminares, uma vez que em concentrações menores do que 0,5 mg/mL não foram observadas alterações significativas na mobilidade do verme planar tanto para *T. catappa* como para *S. terebinthifolius*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral, pode-se concluir que os extratos de folhas de *T. catappa* e de frutos de *S. terebinthifolius* apresentam teores altos de compostos flavonóides e polifenólicos, o que contribui para seus efeitos antioxidantes. Por outro lado, o extrato de folhas de *T. catappa* é de toxicidade mediana para os metanauplios de *A. salina*, enquanto que o extrato aquoso de frutos de *S. terebinthifolius* não apresenta toxicidade para metanauplios de *A. salina*, e não afeta a mobilidade de *D. tigrina*. Portanto, é preciso cautela no uso medicinal do extrato de folhas de *T. catappa* como produto fitoterapêutico para tratar doenças em função da sua relativa

toxicidade. Enquanto que, os frutos de *S. terebinthifolius* não apresentam restrição por apresentar valores baixos de toxicidade para os modelos testados neste trabalho. Estudos adicionais seriam necessários para repensar o uso das folhas de *T. catappa* e dos frutos de *S. terebinthifolius* como medicinais para o tratamento de doenças.

## REFERÊNCIAS

ABIODUN, O. O. et al. Antiinflammatory and immunomodulatory activity of an ethanolic extract from the stem bark of *Terminalia catappa* L. (Combretaceae): In vitro and in vivo evidences. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 192, 2016.

AGOSTINI-COSTA, T. D. S.; LIMA, A.; VICTOR LIMA, M. Tannin in cashew apple: Vanillin versus butanol acid assay. **Quimica Nova**, v. 26, n. 5, 2003.

ALBERTASSE, P. D.; THOMAZ, L. D.; ANDRADE, M. A. Plantas medicinais e seus usos na comunidade da Barra do Jucu, Vila Velha, ES. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 3, 2010.

ARNOLD, C. P. et al. Pathogenic shifts in endogenous microbiota impede tissue regeneration via distinct activation of TAK1/MKK/p38. **eLife**, v. 5, n. JULY, 2016.

ARVOUET-GRAND, A. et al. Standardisation D'un Extrait De Propolis Et Identification Des Principaux Constituants. **Journal de Pharmacie de Belgique**, v. 49, n. 6, 1994.

ASEM, A.; RASTEGAR-POUYANI, N.; DE LOS RÍOS-ESCALANTE, P. The genus *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda). I. True and false taxonomical descriptions. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 38, n. 3, 2010.

BABAYI, H. et al. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. **Bioquimica**, v. 16, n. 2, 2005.

BARATELLI, T. DE G. et al. Phytochemical and allelopathic studies of *Terminalia catappa* L. (Combretaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, 2012.

BELLATTO, G. A.; BRAGUINI, W. L. Assessment of the use of cooked *Araucaria angustifolia* seed coats extract as food for brine shrimp. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 55, n. 9, 2020.

BENDAOUD, H. et al. Chemical Composition and Anticancer and Antioxidant Activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi Berries Essential Oils. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 6, 2010.

BOSCOLO, O. H. et al. Potencial antioxidante de algumas plantas de restinga citadas como medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n. 1, 2007.

BRAGUINI, W. L.; PIRES, N. V.; ALVES, B. B. Phytochemical analysis, antioxidant properties and Brine Shrimp lethality of unripe fruits of *Solanum viarum*. **Journal of Young Pharmacists**, v. 10, n. 2, 2018.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, 2006.

CALLEJA, M. C.; GELADI, P.; PERSOONE, G. Modelling of human acute toxicity from physicochemical properties and non-vertebrate acute toxicity of the 38 organic chemicals of the MEIC priority list by PLS regression and neural network. **Food and Chemical Toxicology**, v. 32, n. 10, 1994.

CARLINI, E. A. et al. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, 2010.

CAZAROLLI, L. et al. Flavonoids: Prospective Drug Candidates. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 13, 2008.

CHEN, P. S. et al. Folk medicine *Terminalia catappa* and its major tannin component, punicalagin, are effective against bleomycin-induced genotoxicity in Chinese hamster ovary cells. **Cancer Letters**, v. 152, n. 2, 2000.

CORREIA, S. D. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, 2006.

DA SILVA, M. M. et al. *Schinus terebinthifolius*: Phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, 2017.

DE ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 1, 2007.

DE MENDONÇA ROCHA, P. M. et al. Synergistic antibacterial activity of the essential oil of aguaribay (*Schinus molle* L.). **Molecules**, v. 17, n. 10, 2012.

DE MESQUITA, M. L. et al. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, n. 3, 2009.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; DOS SANTOS, R. J. Atividade Antioxidante de Extrato de Fruto de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 2, 2004.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 9, 2006.

DOS SANTOS, O. V.; LORENZO, N. D.; LANNES, S. C. DA S. Chemical, morphological, and thermogravimetric of *Terminalia catappa* Linn. **Food Science and Technology**, v. 36, n. 1, 2016.

- FAN, Y. M. et al. Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. **Fitoterapia**, v. 75, n. 3–4, 2004.
- FENNER, R. et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, 2006.
- GOMES, F. S. et al. Isolation and Antimicrobial Activity of Lectin from *Schinus terebinthifolius* Leaves. **Journal of Biotechnology**, v. 150, p. 453–453, nov. 2010.
- HIROTA, B. C. K. et al. Avaliação de Toxicidade *In Vitro*: Aplicabilidade do Ensaio de Letalidade Frente à *Artemia salina*. **Visão Acadêmica**, v. 13, n. 2, 2012.
- IVANI, S. D. A. et al. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de castanheira (*Terminalia catappa* L. - Combretaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, 2008.
- JESUS, S.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Frugivoria por aves em *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) e *Myrsine coriacea* (Myrsinaceae). **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 15, n. 4, p. 585–591, 2007.
- JOHANN, S. et al. Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolius* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 9, 2010.
- KUBO, I. et al. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry**, v. 99, n. 3, 2006.
- LEITÃO, F. et al. Urban ethnobotany in Petrópolis and Nova Friburgo (Rio de Janeiro, Brazil). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1 B, 2009.
- LIN, T. C. Tannin and related compounds from *Terminalia catappa* and *Terminalia parviflora*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 46, n. 4, 1999.
- LIU, C. et al. Most invasive species largely conserve their climatic niche. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 38, 2020.
- LIU, T. Y. et al. Modification of mitomycin C-induced clastogenicity by *Terminalia catappa* L. *in vitro* and *in vivo*. **Cancer Letters**, v. 105, n. 1, 1996.
- MARQUES, M. R. et al. Composição física, físico-química, química, análise do teor de fenólicos totais e poder antioxidante *in vitro* de frutos de castanhola (*Terminalia catappa* linn). **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 1, 2012.
- MATSUO, A. L. et al.  $\alpha$ -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 411, n. 2, 2011.
- MCLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L.; ANDERSON, J. E. The use of biological assays to evaluate botanicals. **Therapeutic Innovation & Regulatory Science**, v. 32, n. 2, 1998.

MEDEIROS, K. C. P. et al. Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: *Eucalyptus globulus* Labill, *Peltodon radicans* Pohl and *Schinus terebinthifolius* Raddi in inflammatory models. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, 2007.

MEGA, T. P. et al. Use of medicinal herbs by patients with severe asthma managed at a referral center. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, 2011.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 1, 1982.

MININEL, F. J. et al. Characterization and quantification of compounds in the hydroalcoholic extract of the leaves from *Terminalia catappa* Linn. (Combretaceae) and their mutagenic activity. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

MITCHELL, J. D. The poisonous Anacardiaceae genera of the world. **Advances in Economic Botany**, v. 8, 1990.

MOONEY, H. A.; CLELAND, E. E. The evolutionary impact of invasive species. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 10, 2001.

MOURA-COSTA, G. F. et al. Antimicrobial activity of plants used as medicinals on an indigenous reserve in Rio das Cobras, Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, 2012.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, 2001.

MOUSTAKAS, D. et al. Guarana provides additional stimulation over caffeine alone in the planarian model. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, 2015.

NAGAPPA, A. N. et al. Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, n. 1, 2003.

OTANG, M. Assessment of potential toxicity of three South African medicinal plants using the brine shrimp (*Artemia salina*) assay. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 7, n. 20, 2013.

OUYANG, K. et al. Behavioral effects of Splenda, Equal and sucrose: Clues from planarians on sweeteners. **Neuroscience Letters**, v. 636, 2017.

PAWAR, S. P.; PAL, S. C. Antimicrobial activity of extracts of *Terminalia catappa* root. **Indian Journal of Medical Sciences**, v. 56, n. 6, 2002.

PIRANI, J. R.; DA SILVA-LUZ, C. L. Checklist of Picramniales and Sapindales (excluding Sapindaceae) from the state of Mato Grosso do Sul. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 73, 2018.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, n. 2, 1999.

RAFFA, R. B.; HOLLAND, L. J.; SCHULINGKAMP, R. J. Quantitative assessment of dopamine D2 antagonist activity using invertebrate (Planaria) locomotion as a functional endpoint. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 45, n. 3, 2001.

RAFFA, R. B.; VALDEZ, J. M. Cocaine withdrawal in Planaria. **European Journal of Pharmacology**, v. 430, n. 1, 2001.

RATNASOORIYA, W. D.; DHARMASIRI, M. G. Effects of *Terminalia catappa* seeds on sexual behaviour and fertility of male rats. **Asian Journal of Andrology**, v. 2, n. 3, 2000.

RAWLS, S. M. et al. Nicotine behavioral pharmacology: Clues from planarians. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 118, n. 2–3, 2011.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, 1996.

SACAVALAGE, S. et al. Withdrawal-like behavior in planarians is dependent on drug exposure duration. **Neuroscience Letters**, v. 439, n. 1, 2008.

SANTOS, E. B. et al. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, 2009.

SANTOS, Í. R. N. et al. Extração de óleo essencial da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e determinação da citotoxicidade e contagem inibitória mínima. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, 2020.

SANTOS, I. R. N. Essential oil extraction pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) and determination of cytotoxicity and inhibitory count minimum. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. 1–18, 2020.

SHIROOR, D. A.; BOHR, T. E.; ADLER, C. E. Chemical amputation and regeneration of the pharynx in the planarian *Schmidtea mediterranea*. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2018, n. 133, 2018.

SILVA, A. C. O.; LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 381–388, 2016.

SILVA, L. R.; OLIVEIRA, A. A.; LIMA, R. A. Identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 2, n. 2, 2015.

ŠKERGET, M. et al. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 89, n. 2, 2005.

TANAKA, T.; NONAKA, G. I.; NISHIOKA, I. Tannins and Related Compounds. XLII.1) Isolation and Characterization of Four New Hydrolyzable Tannins, Terflavins A and B, Tergallagin and Tercatain from the Leaves of *Terminalia catappa* L. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n. 3, 1986.

# CAPÍTULO 14

## DOENÇAS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA: REVISÃO DE LITERATURA

**Kênia Kelly Freitas Sarmiento**, Graduada em Ciências Biológicas, Mestranda em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba

**José Everton Soares de Sousa**, Graduado em Engenharia Sanitária e Ambiental, Mestrando em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba

**Vanessa Rosales Bezerra**, Graduada em Engenharia Sanitária e Ambiental, Doutoranda em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba

**Karyna Steffane da Silva**, Graduanda em Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba

**Keila Machado de Medeiros**, Professor Adjunto, Doutora em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

**Carlos Antônio Pereira de Lima**, Professor Associado, Doutor em Engenharia Mecânica, Universidade Estadual da Paraíba

### RESUMO

A água é responsável pela existência das mais diversas formas de vidas que possui no planeta terra, pois ela participa de processos físicos, químicos e biológicos. A qualidade está comprometida devido aos seus múltiplos usos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) as doenças de veiculação hídrica são divididas em dois grupos: doenças de transmissão hídrica e doenças de origem hídrica. Em relação às doenças de veiculação hídrica, que respondem pelo maior número de internamentos do Sistema único de Saúde estão intrinsecamente ligadas à falta de saneamento e ao precário tratamento da água para o consumo humano. O objetivo deste estudo é realizar um levantamento bibliográfico sobre as doenças de veiculação hídricas, que afetam a população. Estima-se que 80% das doenças causadas por microrganismos patogênicos são ocasionadas por águas contaminadas. Sendo de grande importância o tratamento da água, pois as doenças de veiculação hídrica podem ser causadas por diversos microrganismos, como as bactérias, fungos, vírus, protozoários e helmintos, presentes em água contaminada. Diante dos resultados obtidos foi possível observar que de acordo com a revisão de literatura, logo se pode confirmar que as águas estão cada vez mais contaminadas. Fazendo necessário, diante do exposto, a necessidade das entidades de poder público juntamente com a sociedade de adotar estratégias para a manutenção da qualidade da água.

**PALAVRAS-CHAVE:** Qualidade da água; Saneamento; Água contaminada; Agentes patogênicos.

## 1. INTRODUÇÃO

A água é responsável pela existência das mais diversas formas de vida que possui no planeta terra, pois ela participa de processos físicos, químicos e biológicos. Entretanto, a exploração desse bem natural vem sendo de maneira não sustentável, com isso ocorre o comprometimento da qualidade e da oferta dos recursos hídricos existentes. A qualidade está comprometida devido aos seus múltiplos usos, o desmatamento de suas matas ciliares, e a poluição (BUZELLI; SANTINNO, 2013).

Conforme Philippi e Malheiros (2005) a água, sendo um recurso finito e vulnerável, pode representar um obstáculo ao desenvolvimento socioeconômico de um país e à qualidade de vida do indivíduo. Há uma intrínseca relação entre o acesso à água de boa qualidade, adequada infraestrutura de saneamento e saúde humana. Wolf, Sausen, e Battisti (2011) relataram que os principais problemas de poluição no Brasil decorrem da falta de abastecimento de água potável e pela falta da coleta segura de esgotos.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) as doenças de veiculação hídrica são divididas em dois grupos: doenças de transmissão hídrica e doenças de origem hídrica. As primeiras são caracterizadas pela presença de microrganismos patogênicos veiculados pela água, tais como: vírus, fungos, protozoários e bactérias, que acometem geralmente o trato gastrointestinal. Já as doenças de origem hídrica são caracterizadas pela presença de substâncias químicas na água, acima dos limites permitidos pela legislação vigente. A qualidade da água não se traduz apenas pelas suas características físicas, químicas e microbiológicas, mas pela qualidade de todo o funcionamento do ecossistema (MERTEN e MINELLA, 2002).

Em relação às doenças de veiculação hídrica, que respondem pelo maior número de internamentos do Sistema único de Saúde estão intrinsecamente ligadas à falta de saneamento e ao precário tratamento da água para o consumo humano. A hepatite A, a febre tifóide e a maioria das diarreias são enfermidades consequentes do consumo de água contaminada (KELMAN, 2003; AMARAL et., 2003). Com isso o objetivo deste estudo é realizar um levantamento bibliográfico sobre as doenças de veiculação hídricas que afetam a população.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

A poluição biológica das águas de acordo com Melo (2019) ocorre quando os corpos de água possuem microrganismos patogênicos, tais como bactérias, vírus, vermes e protozoários

oriundos principalmente de esgotos domésticos e industriais. Eles podem ser lançados diretamente na água ou podem infiltrar-se nos solos, atingindo águas de poços ou de nascentes. As consequências desse tipo de poluição são as várias doenças que podem ser transmitidas aos humanos e animais, tais como febre tifóide, cólera, salmonelose, leptospirose, hepatites, esquistossomose, amebíase e giardíase.

Atividades humanas, como pecuária ou agricultura, ou atividades industriais com resíduos para processamento de carnes ou laticínios e, portanto, com alta carga de matéria orgânica. E quando há disposição inadequada de resíduos sólidos pode haver contaminação de águas superficiais ou subterrâneas, que passam a atuar como veículo de agentes infecciosos. Geralmente, o homem é atingido pelos microrganismos patogênicos por meio das excreções das pessoas e animais que estejam contaminados, que podem ocasionar diversas doenças, destacando-se doenças no trato intestinal, infecções e contaminações (SOUZA, 2018; MACÊDO; PORTELA, 2009).

Como relatado por Zimmerman, (2001) a população mundial está em constante crescimento e rápido desenvolvimento, aumentando vertiginosamente o consumo de água. Paralelamente, há o crescimento na eliminação de dejetos, se fazendo assim necessário um sistema de saneamento básico eficiente. Em planos de pré-desenvolvimento e acompanhamento pós-desenvolvimento, a incorporação do impacto na saúde é falha, sendo poucos os estudos em que a saúde é vista como um componente importante.

Há mais de trinta anos, o Ministério da Saúde normatiza no Brasil parâmetros para qualidade de água para consumo, porém continuamos a enfrentar problemas de contaminação microbiológica da água. Este problema, decorrente do gerenciamento inadequado de dejetos e resíduos, além da grande emissão de poluentes, que é um problema com amplitude mundial, acaba atingindo ambientes urbanos e rurais. As fontes de contaminação das águas superficiais e subterrâneas são inúmeras, podendo provir de origem humana ou animal, e podem carrear bactérias, protozoários e vírus, dentre outros microrganismos (LUZ, 2011; SOUZA, 2018).

## **2.1 Principais doenças veiculadas pela Água**

Apesar do crescente número de questões ambientais no Brasil, ainda é insuficiente às resoluções ou tomadas de ações no Brasil. Sendo que a população mais pobre sofre com as consequências, onde irá caracterizar em uma baixa infraestrutura na distribuição de água, coleta de lixo, tratamentos de esgotos, configurando em fatores que influenciam na exclusão social e

no aparecimento de doenças como a cólera, febre tifóide, giardíase, amebíase, hepatite e diarreias são constantes entre indivíduos, evidenciando carência de qualidade de vida dessa população, onde, 50 brasileiros morrem por dia em virtude de doenças decorrentes da falta de saneamento básico (ZORATTO, 2006).

Diante de uma pesquisa realizada aproximadamente 80% das doenças causadas por microrganismos patogênicos são ocasionadas por águas contaminadas (FREITAS; SILVA, 2016). É o que acontece com a febre tifóide, cólera, salmonelose, shigelose, poliomielite, hepatite A, verminoses, amebíase e giardíase (MARQUES et al., 2020). Essas doenças podem ser adquiridas de diversas formas: a ingestão de água contaminada com substâncias ou organismos patogênicos pode desencadear uma série de problemas, que, na maioria das vezes, resultam em casos de diarreia. Uma das principais doenças relacionadas com a ingestão de água contaminada é a amebíase. Essa doença pode causar febre, dores abdominais, diarreia com sangue, flatulência, anemia e, até mesmo, morte. Além da amebíase, podemos citar a cólera, a giardíase e a hepatite A, que possuem quase os mesmos sintomas. (NOVA; TENÓRIO, 2019).

O mecanismo de transmissão de doenças mais comumente lembrado e diretamente relacionado à qualidade da água é o da ingestão, por meio do qual um indivíduo sadio ingere água que contém componente nocivo à saúde e a presença desse componente no organismo humano provoca o aparecimento de doença. Os agentes contaminantes de maior importância são a matéria orgânica, os organismos patogênicos, os compostos organossintéticos e os metais pesados (DUARTE, BARATELLA, PAIVA, 2015).

Peil; Kuss e Gonçalves (2015) avaliaram o quadro patológico configurado pelo aumento diariamente da poluição e a contaminação dos recursos hídricos, mostrando a veiculação de doenças causadas por diversos agentes infecciosos, causadores de doenças diarreicas. As principais doenças transmitidas pela água, provenientes principalmente de contaminação fecal humana e animal, em águas destinadas ao consumo.

O aumento de casos das Doenças Infecciosas e Parasitárias é considerado um problema de saúde pública, principalmente as transmitidas pela água, devido aos maus hábitos higiênicos e a precária infraestrutura de saneamento básico, que tem como consequência o aumento das parasitoses nos humanos. (ALBUQUERQUE; SANTOS; BATISTA, 2021).

Os nematoides *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiuria*, *Hymenolepis nana*, *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*, e os protozoários (*Entamoeba histolytica* e

*Giardia lamblia*) são facilmente disseminados entre as populações com deficiências higiênicas, pela ingestão de água e alimentos contaminados (HORNINCK et al., 2013).

Também destaca que além da poluição direta das fontes de água e dos sistemas de distribuição, as condições higiênico-sanitárias e conservação dos reservatórios também podem ser responsáveis pela veiculação de agentes patogênicos, pois assumem papel importante na contaminação ou recontaminação da água. Isso ocorre pela transmissão de microrganismos caso estes locais estejam em condições inadequadas de higiene e conservação (FARIA; PAULA; VEIGA, 2013). A prevenção das doenças hídricas está condicionada às práticas de higiene, à infraestrutura das moradias e ao saneamento básico (BORJA, 2014).

### **3. METODOLOGIA**

O desenvolvimento deste presente estudo foi realizada nas principais e mais importantes bases de dados (Science Direct, Web of Science, SciELO, PubMed e Scopus) nacionais e internacionais, dentro da temática publicadas nos últimos anos, disponíveis na internet buscando um embasamento teórico, e contemplando os trabalhos acadêmicos e os livros-texto especializados que foram publicados, observando as infecções que mais acometem a população, relacionadas a doenças de veiculação hídrica.

### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **4.1 A importância do tratamento da água**

No final do século 19 e início do século 20, a qualidade da água passou a ser uma questão de interesse para a saúde pública. Antes, eram aspectos estéticos e sensoriais como cor, gosto e odor que a qualidade se associava. Na Grécia antiga, técnicas como filtração, exposição ao sol e fervura eram utilizadas para melhorar a qualidade da água e, pela aparência turva que a água podia apresentar, os gregos acreditavam na existência de relações causais entre água e enfermidades (FREITAS & FREITAS, 2005).

Segundo Melo (2020), a falta de saneamento básico, além de prejudicar a saúde da população, eleva os gastos da saúde com o tratamento às vítimas de doenças causadas pela falta de abastecimento de água adequado, sistema de tratamento de esgoto e coleta dos resíduos. Desta forma, o contato com a água contaminada pode comprometer a saúde dos indivíduos aumentando o risco de doenças de origem e transmissão hídricas (FERREIRA et al, 2016).

De acordo com Tundisi (2006) a contaminação e o aumento das substâncias tóxicas na água e de vetores de doenças de veiculação hídrica estão diretamente relacionados com o saneamento básico e condições inadequadas de tratamento das águas contaminadas por vários processos. O Ministério da Saúde por meio da Portaria de consolidação nº 888, de 4 de Maio de 2021, dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (BRASIL, 2021).

As doenças de veiculação hídrica podem ser causadas por diversos microrganismos, como bactérias, fungos, vírus, protozoários e helmintos, presentes em água contaminada. Este fato é agravado em comunidades em que o sistema de abastecimento de água tratada é inadequado, forçando o uso de minas, poços, bicas, ou então que utilizam água mineral de fontes contaminadas. (OLIVEIRA et al, 2018).

É de grande importância ter hábitos higiênicos, Razzolini (2008) relatou que os benefícios como o aumento da expectativa de vida e produtividade econômica, hábitos higiênicos, controle e prevenção de doenças, são resultados de acesso a condições adequadas de abastecimento.

Os autores Oliveira et al. (2015) discutiram e verificaram por meio de análise descritiva e revisão bibliográfica que o caso do saneamento no Brasil é um problema de saúde pública, sendo sua implementação peça fundamental na prevenção de inúmeras doenças e na preservação do meio ambiente, e devido a falta de um sistema adequado de saneamento gera diversas externalidades negativas para a sociedade.

De acordo com Silva (2007) as análises são de fundamental importância para a determinação de parâmetros de consumo humano. É inegável que a população não possui informações suficientes para avaliar os riscos de contaminação a que está sujeita, fazendo-se necessário, a maior divulgação de estudos e análises acerca da qualidade da água.

Duarte, Baratella E Paiva, (2015) relataram que ao ter acesso ao tratamento de água e esgoto, a população tem a oportunidade de extinguir ou pelo menos minimizar os efeitos de uma possível contaminação por agentes patogênicos, em que o veículo transmissor seja a água.

O acesso às redes de abastecimento adequadas de água e esgoto é um item de grande relevância na saúde dos indivíduos. Muitas doenças, inclusive as diarreicas, poderiam ser prevenidas através de investimentos em melhorias nessas redes. (OLIVEIRA, LEITE e VALENTE, 2015).

No entanto, o tratamento adequado da água e do esgoto se destacam como as principais ações de prevenção contra as doenças de veiculação hídrica. Segundo D’Aguila et al (2000), a manutenção da qualidade da água é uma necessidade universal, exigindo a atenção de todos, não somente dos órgãos públicos, principalmente quando nos referimos à água de mananciais destinados ao consumo humano, uma vez que sua contaminação por microrganismos patógenos de origem entérica, animal ou humana, pode torná-lo um transmissor de agentes causadores de doenças infecciosas e parasitárias.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diante dos resultados obtidos foi possível observar que de acordo com a revisão de literatura, logo se pode confirmar que as águas estão cada vez mais contaminadas. E que os problemas ambientais estão associados às doenças que afetam principalmente a população menos informada ou assistida, sendo de difícil controle dessas doenças de veiculação hídrica, as doenças de veiculação hídrica mais prevalente são infecções intestinais, shigelose, cólera e febre tifoide. Pois as doenças de veiculação hídrica podem ser causadas por diversos microrganismos, como bactérias, fungos, vírus, protozoários e helmintos, presentes em água contaminada.

Faz-se necessário a realização de exames rotineiros em águas, rios e caixas d’água, verificando a qualidade da água, que chegará às nossas residências, levando em consideração o padrão de potabilidade da portaria de consolidação nº 888, de 4 de Maio de 2021, Diante do exposto torna-se evidente a necessidade de políticas públicas que possam garantir à população o direito de acesso ao saneamento básico adequado, de forma que avalize a qualidade da água, e investir em campanhas educativas e preventivas, junto com a sociedade para que a população venha a cooperar para as ações do governo.

## **6. AGRADECIMENTOS**

A presente pesquisa foi realizada com apoio da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB. Os autores agradecem ao Grupo de Pesquisa em Tratamentos Avançados de Águas - GRUTAA/UEPB, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelas bolsas concedidas.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, Helder Neves De; SANTOS, Cerqueira Joaci Dos; BATISTA, Abraão Romão. DOENÇAS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA NO CONTEXTO ESCOLAR. **Open Minds International Journal**, v. 2, n. 1, p. 82-100, 2021.

AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A. ROSSI JUNIOR, O. D.; FERREIRA, F. L. A.; BARROS, L. S. S. Água de consumo humano como fator de risco a saúde em propriedades rurais. *Rev. Saúde Pública*. São Paulo. 37(4) 510-514. 2003.

BUZELLI, Giovanna Moreti; CUNHA-SANTINO, Marcela Bianchessi Da. Análise e diagnóstico da qualidade da água e estado trófico do reservatório de Barra Bonita, SP. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, p. 186-205, 2013.

BORJA, Patrícia Campos. Política pública de saneamento básico: uma análise da recente experiência brasileira. **Saúde e Sociedade**, v. 23, p. 432-447, 2014.

BRASIL. Portaria de consolidação de nº 888 de 4 de Maio de 2021 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

D'AGUILA, Paulo Soares et al. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, p. 791-798, 2000.

DUARTE, Patrícia Silva Costa; BARATELLA, Ricardo; PAIVA, Aléxia Salim. As doenças de veiculação hídrica: um risco evidente. **ENCONTRO DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO**, v. 8, p. 22-24, 2015.

FREITAS, Leonardo Luiz DE; SILVA, Kelly Cristina DA. Quantificação microbiológica de bebedouros de escolas públicas em Muriaé (MG). **Revista Científica da Faminas**, v. 9, n. 1, 2016.

FREITAS, Marcelo Bessa; FREITAS, Carlos Machado de. A vigilância da qualidade da água para consumo humano: desafios e perspectivas para o Sistema Único de Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, p. 993-1004, 2005.

FERREIRA, P. S. F; MOTTA, P. C; SOUZA, T.C; SILVA, T. P; OLIVEIRA, J. F; SANTOS, A. S. P. Avaliação preliminar dos efeitos da ineficiência dos serviços de saneamento na saúde pública brasileira. *Revista Internacional de Ciências*, Rio de Janeiro, v. 06, n. 02, p. 214 - 229, 2016.

FARIA, Tatiane; PAULA, Ramon Alves De Oliveira; VEIGA, Sandra Maria Oliveira Moraes. Qualidade microbiológica da água para consumo humano em unidades de alimentação escolar. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 1, p. 135-144, 2013.

HORNINK, Gabriel Gerber et al. **Principais parasitos humanos de transmissão hídrica ou por alimentos**. Unifor-MG, 2013.

KELMAN, J. O desafio de levar água para todos. Rio de Janeiro, *Revista Educação Ambiental*, Ed. Senac, ano, v. 12, p. 8-12, 2003.

LUZ, R. B. Análise da viabilidade de partículas virais infecciosas em amostras de água. Universidade FEEVALE. Novo Hamburgo 2011.

MELO, Marly de Fátima De. **Doenças De Veiculação Hídrica**. Belém do Pará, AEDI. 2019.

MELO, J. E. P. Levantamento dos impactos inerentes à inadequação do saneamento básico. 2020.

MERTEN, Gustavo H.; MINELLA, Jean P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecologia e desenvolvimento rural sustentável**, v. 3, n. 4, p. 33-38, 2002.

MARQUES, Wenedy et al. Análise microbiológica e correlação do pH da água dos bebedouros utilizada para o consumo humano em escolas do município de Alagoa Grande-Paraíba. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 19, n. 3, p. 457-465, 2020.

MACÊDO, J. D. S.R., PORTELA, M. G. T. Doenças de Veiculação Hídrica: Estudo do Tema na Escola. IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. Belém – PA, 2009.

NOVA, Fátima Verônica Pereira Vila; TENÓRIO, Nicole Bezerra. Doenças de Veiculação Hídrica associadas à degradação dos recursos hídricos, município de Caruaru-PE. **Caminhos de Geografia**, v. 20, n. 71, p. 250-264, 2019.

OLIVEIRA, Henry Johnson Passos DE et al. Educação em saúde como forma preventiva do uso indiscriminado dos antibióticos. **Revista Saúde-UNG-Ser**, v. 11, n. 1 ESP, p. 52, 2018.

OLIVEIRA, Janine Patrícia Melo et al. Saúde/doença: as consequências da falta de saneamento básico. **Informativo Técnico do Semiárido**, v. 9, n. 2, p. 23-29, 2015.

OLIVEIRA, Andreia Ferreira de; LEITE, Iuri da Costa; VALENTE, Joaquin Gonçalves. Global burden of diarrheal disease attributable to the water supply and sanitation system in the State of Minas Gerais, Brazil: 2005. **Ciência & saúde coletiva**, v. 20, p. 1027-1036, 2015.

PHILIPPI Jr, Arlindo; MALHEIROS, Tadeu Fabrício. Saneamento e saúde pública: integrando homem e ambiente. In: Saneamento, saúde e ambiente: fundamentos para um desenvolvimento sustentável. Arlindo Philippi Jr (editor). Barueri, SP: Manole, 2005. P. 16-23.

PEIL, Greice Hartwig Schwanke; KUSS, Anelise Vicentini; GONÇALVES, Maria do Carmo Ferreira. Avaliação da qualidade bacteriológica da água utilizada para abastecimento público no município de Pelotas-RS-Brasil. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 1, p. 79-84, 2015.

RAZZOLINI, Maria Tereza Pepe; GÜNTHER, Wanda Maria Risso. Impactos na saúde das deficiências de acesso à água. **Saúde e Sociedade**, v. 17, p. 21-32, 2008.

SOUZA, Walber Gonçalves. Uma abordagem escolar sobre a percepção de doenças de veiculação hídrica. **Revista Eletrônica Sala de Aula em Foco-ISSN 2316-7297**, v. 7, n. 2, 2018.

SILVA, C.H.P.M. Águas e Águas. Cap. 10. 3ª Ed. Belo Horizonte. 2007.

TUNDISI, José Galizia. Novas perspectivas para a gestão de recursos hídricos. **Revista USP**, n. 70, p. 24-35, 2006.

WOLF, Eduarda C.; SAUSEN, Mateus G.; BATTISTI, Iara DE. O Estudo Da Relação Entre Saúde E Meio Ambiente Na Região Das Missões. **Salão do Conhecimento**, 2011.

ZORATTO, A. C. A importância do tratamento de esgoto doméstico no saneamento básico. **II Fórum Ambiental da Alta Paulista, Tupã**, 2006.

ZIMMERMAN, Robert H. Wetlands and infectious diseases. **Cadernos de saúde pública**, v. 17, p. S127-S131, 2001.

# CAPÍTULO 15

## DESENSOLVIMENTO E MATURAÇÃO DO SISTEMA VISUAL NA INFÂNCIA

**Roberta Maria de Sousa Alexandre**, Graduada em Psicologia,  
UFPB, João Pessoa, Paraíba

**Edizângela de Fátima Cruz de Souza**, Graduada em Psicologia, UFPB

**Gabriella Medeiros Silva**, Mestranda em Psicologia Social, UFPB, João Pessoa, Paraíba

**Natanael Antonio dos Santos**, Professor titular do Departamento de Psicologia, UFPB, João  
Pessoa, Paraíba

### RESUMO

O objetivo do presente capítulo foi apresentar aspectos do processo de desenvolvimento e maturação visual, no período do nascimento aos sete anos de idade, compreendendo as principais mudanças que ocorrem nessa fase. Trata-se de uma revisão narrativa da literatura. Os achados indicam que o processo de formação do sistema visual se inicia na gestação, ocorrendo, desde então, a maturação visual. Até o nascimento não se tem todo processo de maturação, ocorrendo a posteriori. A visão do recém-nascido modifica-se ao longo dos meses, como a visão acromática, a visão de cores, a relação com o córtex, retina, globo ocular, mácula, entre outros. As alterações acontecem até atingir a idade adulta. Portanto, a formação, o desenvolvimento e a maturação visual ocorrem em uma escala de tempo, de forma integrada às funções neuromotoras, e dependem das alterações fisiológicas do indivíduo, que atinge um limiar de formação ainda na infância.

**PALAVRAS-CHAVE:** Desenvolvimento Visual. Maturação visual. Sistema Visual. Nascimento. Infância.

### INTRODUÇÃO

O desenvolvimento e maturação do sistema visual (SV) envolve todo um conjunto de mecanismos de formação, os quais não estão completos ao nascer (SOUSA, 1997). O SV se desenvolve no decorrer dos meses de vida e a cada período do ciclo vital evolui, compreendendo a fase desde o pré-natal até a velhice (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a).

A formação visual tem seu início no processo gestacional, assim como a maturação visual. Nesse ciclo, há uma diferenciação e remodelamento das células, as quais são importantes para o processo de formação e resultando nas primeiras funções visuais (GLASS, 2002). Com o decorrer do tempo, as mudanças no SV vão ocorrendo, de forma que, por volta dos sete anos de idade, já se tem áreas de formação concluídas, como as áreas precoces do córtex (FARRONI; MENON, 2008).

A visão se difere ao longo do ciclo de vida, por isso se faz importante conhecer as fases e entender o que acontece naquele período (JOHNSON, 2020). Em vista dessas diferenciações é preciso estar atento as alterações que possam ocorrer no processo de formação. Visto que se há algo que possa prejudicar o desenvolvimento da visão é necessário identificar essa mudança, visando corrigi-la, quando possível, de forma breve, para que não evolua com o decorrer do tempo (COLES, 2018).

Muitas vezes a ajuda profissional é buscada apenas quando a criança ingressa na escola, pois é mais perceptível a dificuldade em atividades escolares, e a partir daí tem-se conhecimento de alguma possível alteração visual. No entanto, a ideia de que a avaliação da visão só deve ser realizada após início de leituras ou inserção em creches é uma perspectiva ultrapassada. É necessária uma observação prévia, visando verificar se existe algum sinal aparente, como olhos lacrimejando em excesso, alguma secreção, e a consulta de rotina para acompanhamento (COLES, 2018).

Os problemas resultantes do desenvolvimento do SV podem afetar crianças, adultos ou idosos nas esferas escolar, social e até mesmo esportivas. Além de comprometer atividades diárias executadas no dia a dia (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a). Em vista disso, compreende-se a importância e a necessidade do estudo do desenvolvimento e maturação do SV na infância, no período do nascimento aos 7 anos de idade, com o objetivo de conhecer alguns aspectos que ocorrem no desenvolvimento e maturação do SV nesse ciclo de vida.

## **MÉTODO**

Foi realizada uma revisão narrativa, a qual contou com alguns artigos para a análise e produção do presente capítulo. A revisão narrativa promove o conhecimento sobre determinado assunto de forma ampla e em curto espaço de tempo, uma vez que é realizada sem um protocolo rígido e de maneira não sistemática. As informações foram colhidas e analisadas conforme sua relevância para o assunto em debate (ROTHER, 2007).

Os materiais usados serviram de base contextual acerca da temática do desenvolvimento e maturação visual, compreendendo o processo de maturação e a relação com o período da infância. Foram selecionados e utilizados capítulos de livros e artigos que abordassem a temática do desenvolvimento visual, nas diversas fases do ciclo vital do ser humano, assim como alguns sinais de alerta a perceber no campo da visão.

## NASCIMENTO AO PRIMEIRO ANO DE VIDA

A formação do SV ocorre desde o período do pré-natal. Na gestação, por volta da vigésima terceira semana, as principais estruturas oculares já estão no lugar e ao nível do córtex visual, a via visual está completa. No último trimestre gestacional, a retina e o córtex visual sofrem extensa maturação, bem como diferenciação de células e remodelamento, e a partir daí tem-se as primeiras funções visuais (GLASS, 2002).

Ao nascer os bebês não têm sua visão constituída por completa, sendo um processo a percorrer, o qual envolve o aprendizado de habilidades (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a). Até a décima semana após o nascimento ocorre a finalização da mielinização da fibra do nervo óptico, e, por conseguinte, há um aumento na densidade sináptica do córtex visual (BICAS, 2004; BRADDICK; ATKINSON, 2011). Nesse período, não há a dilatação por completo das pupilas, sendo a curvatura do cristalino em um formato quase esférico e a retina ainda não é totalmente desenvolvida, em específico a mácula (FARRONI; MENON,2008).

Algumas das estruturas mencionadas podem ser visualizadas a partir da esquematização geral da anatomia do olho humano presente Figura 1.

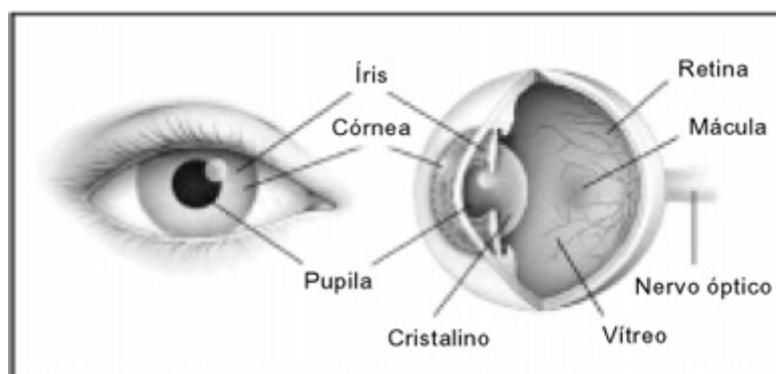


Figura 1 – Representação da anatomia do olho humano  
Fonte: (GRAZIANO; LEONE, 2005).

Os recém-nascidos apresentam baixa capacidade de fixação, dessa maneira possuem capacidade limitada na diferenciação das cores. Além disso, devido aos mecanismos de orientação subcorticais há um campo visual limitado (FARRONI; MENON,2008). O espectro de frequências espaciais visíveis no recém-nascido é diferente ao do adulto, assim como a acuidade visual, tendo em vista que o SV do recém-nascido ainda se encontra imaturo para o processamento (COSTA ET AL.,2006; HEERING ET AL.,2008). Nos primeiros dias após o

nascimento a acuidade visual é de 20/170 (NORCIA, 1985). Porém, aos primeiros seis meses há uma evolução mais rápida dessa função visual (SALOMÃO; VENTURA,1995).

No decorrer do primeiro mês a visão encontra-se mais bem apropriada e há uma sincronia entre os dois olhos, isso auxilia na percepção e coordenação ao interagir com objetos. Neste período, há um pico de sensibilidade visual para 1 ciclo/grau, já no comparativo aos três meses de vida muda para 5 ciclos/grau (ATKINSON ET AL., 1977).

Os dois primeiros meses do bebê é uma fase a qual os olhos estão um pouco vagos. Já entre o terceiro e quarto mês a relação de focalização com os objetos apresenta-se de maneira mais eficaz, proporcionando um alcance aos objetos com os olhos do bebê (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a). Nesse tempo, o olhar já não é tão mais centrado ao preto e branco, como quando recém-nascido, as cores tanto amarelas e vermelho já chamam atenção do bebê. O controle cortical dos movimentos cabeça e olhos já se fazem presentes nessa fase e o circuito ventral e dorsal, assim como os sistemas neurais, já contribuem no contexto visual (FARRONI; MENON,2008).

No decorrer do quinto mês as habilidades de cognição e alcance dos objetos se tornam melhores, a relação com a percepção se os objetos estão próximos ou distantes se faz presente nesse período, a relação com as cores apresenta-se melhor. Quando o bebê começa a engatinhar, por volta dos oito meses, o processo de acompanhar os objetos com os olhos junto a coordenação motora vai melhorando à medida que ele engatinha mais, pois tem mais noção das coisas a sua volta e da coordenação dos olhos aos movimentos (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a).

Dos nove aos doze meses muitas mudanças ocorrem. Aos nove meses a acuidade visual já está próxima ao nível de maturidade, esse processo de melhora se dá dos seis aos nove meses. (FARRONI & MENON,2008). Nesse tempo o bebê já começa a se esticar, ficando de pé. Aos dez meses é provável que o bebê consiga pegar alguns objetos com as mãos em forma de pinça (polegar e o indicador). Aos doze meses o bebê, na maioria das vezes, está engatinhando e tentando andar, o que é importante para coordenação mão-olho, além de ter uma noção acerca de distâncias, podendo arremessar coisas (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a).

Essa fase do nascimento ao primeiro ano de vida é marcada por transformações e alterações, e por isso se faz necessário a observação dos cuidadores quanto ao notar algo

diferente e procurar um especialista como também a importância da realização de exames. É importante uma avaliação ocular aos seis meses de vida, visto que esperar a idade escolar é arriscado, pois caso apresente alguma alteração, o quanto antes diagnosticar melhor para o tratamento (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a).

Sinais de alerta, do nascimento ao primeiro ano de vida, que os cuidadores precisam estar atentos são: “Rasgo excessivo” que é característico do bloqueio do canal lacrimal. “Pálpebras vermelhas” indicativo de infecção ocular. “Virar olhos constantemente” indicativo de problema na musculatura ocular. “Sensibilidade extrema a luz” indicativo de pressão ocular. “Aparecimento de pupila branca” indicativo de câncer no olho (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a).

## **DOIS – CINCO ANOS**

Aos dois anos de idade a criança já experienciou muitas coisas as quais pode relacionar aos movimentos coordenados ópticos. Ela consegue “imitar os movimentos”, compreender cores e formatos, resultando em combinar estes. A acuidade visual é normal nesse período e a mielinização do nervo óptico já está completa, além de ter a orientação vertical (FARRONI & MENON,2008).

Aos três anos a retina tem seu tecido maduro (FARRONI & MENON,2008). E na faixa etária dos três aos cinco anos, correspondente ao pré-escolar, as crianças começam a ser estimuladas em casa no processo de aprendizagem ou mesmo frequentam alguma creche ou berçário. Nessa fase, ocorre a “facilidade acomodativa”, de acordo com a qual os olhos da criança têm a capacidade de focar em estímulos de determinada distância com períodos específicos e em diferentes frequências. Ocorre também a “capacidade de vergência” em que há um movimento nos dois olhos com direção divergente um do outro, culminando numa visão binocular única (COLES, 2018).

A utilização de jogos, atividades de recortes, colagens, pinturas, desenhar, montar e desmontar brinquedos, uso da massinha, entre outros específicos a essa idade, auxiliam na percepção visual, nas cores e na coordenação “olho-corpo-mão guiada visualmente” (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]a)

## **SEIS – SETE ANOS**

Esse período é marcado por mudanças, a criança, na maioria das vezes, já se encontra em fase escolar, e isso inclui estar em maior contato com as atividades que trabalham com as

funções visuais. Além disso, é um período no qual a ida a um especialista já se torna mais pontual (AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION, [s.d.]b).

As áreas precoces do córtex estão concluídas, isso envolve as funções básicas de áreas sensoriais, porém áreas mais complexas de percepção e cenas visuais decorrem de mais tempo (FARRONI; MENON,2008). Algumas alterações podem ocorrer na visão, as mais comuns, com início geralmente aos sete anos, são: miopia, condição em “o globo ocular é muito longo, em relação ao poder de foco da córnea e do cristalino”. Essa alteração faz com que haja uma concentração em um ponto à frente na retina, ao invés da superfície. Outra alteração comum é a hipermetropia, em que há uma dificuldade em ver objetos, ou melhor, focalizar em objetos mais próximos, tendo uma visão melhor dos objetos a uma distância maior (COLES, 2018).

O astigmatismo também pode ocorrer, ele tem sua característica de visão turva, ou mais conhecida como visão embaçada. Condição em que há uma alteração da precisão dos objetos próximos e distantes, ou seja, eles se apresentam de forma turva. Isso ocorre pois a luz não é capaz de atingir um foco único da retina (COLES, 2018).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O desenvolvimento e maturação do SV ocorre de forma integrada às funções neuromotoras e tem início desde o pré-natal com uma aceleração no período da infância, a qual é marcada por diversas mudanças no contexto fisiológico. Essa fase de mudanças nos órgãos e sistemas contribuem para o a formação do SV.

O SV da criança ao nascer muda conforme os meses de vida, e é diferente da visão do adulto. Aos sete anos de idade as áreas precoces do córtex estão concluídas, no entanto, ainda as funções mais complexas ainda não estão completamente maturadas, algo que ainda levará algum tempo para ocorrer.

Além disso, nossa revisão também apresentou as principais alterações visuais que podem ocorrer durante cada fase do desenvolvimento. Dessa forma, é importante que pais e cuidadores estejam atentos a esses sinais, além de procurar estar sempre fazendo uma revisão com um profissional, pois quanto mais cedo um problema visual for diagnosticado, melhor será o prognóstico no tratamento.

Todavia, a temática acerca da maturação do sistema visual não apresenta tantos estudos disponíveis, o que se apresenta como uma limitação. Em vista disso, recomendam-se mais

estudos sobre a área, focando nos processos fisiológicos e desenvolvimento do SV para que as pessoas tomem mais conhecimento da área.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION. **Infant Vision: Birth to 24 Months of Age**. Disponível em: <<https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-health-for-life/infant-vision?sso=y#1>>. Acesso em: 30 jul. 2021a.

AMERICAN OPTOMETRIC ASSOCIATION. **School-Aged Vision: 6 to 18 Years of Age**. Disponível em: <<https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-health-for-life/school-aged-vision?sso=y>>. Acesso em: 30 jul. 2021b.

ATKINSON, J.; BRADDICK, O.; MOAR, K. Development of contrast sensitivity over 1<sup>st</sup> 3 months of life in human infant. **Vision Research**, 1977, v.17, p.1037-1044.

BICAS, H. E. A. Fisiologia da visão binocular. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 67, p. 172–180, fev. 2004.

BRADDICK, O.; ATKINSON, J. Development of human visual function. **Vision Research**, v. 51, n. 13, p. 1588–1609, 1 jul. 2011.

COLES, R. Vision and eye health in children. Disponível em: <<https://pharmaceutical-journal.com/article/ld/vision-and-eye-health-in-children>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

COSTA, M. F.; OLIVEIRA, A.G. F.; BERGAMASCO, N.H.P.; VENTURA, D. F. Medidas psicofísicas e eletrofisiológicas da função visual do recém-nascido: uma revisão. **Psicologia USP**, v.17, n. 4, p. 15-33. 2006.

GLASS, P. Developmental of the visual system and implications for Early intervention. **Inf Young Children**, v. 15, n. 1, p. 1-10. 2002.

GRAZIANO, R. M.; LEONE, C. R. Problemas oftalmológicos mais freqüentes e desenvolvimento visual do pré-termo extremo. **Jornal de Pediatria**, v. 81, p. S95–S100, mar. 2005.

FARRONI T, M. E. Percepção visual e desenvolvimento inicial do cérebro. In: Tremblay RE, Boivin M, Peters RDeV, eds. **Enciclopédia sobre o Desenvolvimento na Primeira Infância** [on-line]. Montreal, Quebec: Centre of Excellence for Early Childhood Development e Strategic Knowledge Cluster on Early Child Development; 2013:1-7. Disponível em: <http://www.encyclopedia-crianca.com/documents/Farroni-MenonPRTxp1.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2021.

HEERING, A. *et al.* Newborn's face recognition is based on spatial frequencies below 0.5 cycles per degree. **Cognition**, 2008, v.106, 444-454.

JOHNSON, S. P. Chapter 16 - Development of the visual system. In: RUBENSTEIN, J. *et al.* (Eds.). **Neural Circuit and Cognitive Development (Second Edition)**. [s.l.] Academic Press, 2020. p. 335–358.

NORCIA, A.M.; TYLER, C. W. Spatial frequency sweep vep: visual acuity during the first year of life. **Vision Res**, v. 25, n. 10, p. 1399-1408. 1985.

ROTHER, E. T. Revisão sistemática X revisão narrativa. **Acta paul. enferm.**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. v-vi, 2007.

SALOMÃO, S. R.; VENTURA, D. F. Large sample population age norms for visual acuities obtained with vistech-Teller Acuity Cards. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.36, n. 3, p. 657-670. 1995.

SOUSA, S. J. F. E. Fisiologia e desenvolvimento da visão. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 30, n. 1, p. 16–19, 30 mar. 1997.

# CAPÍTULO 16

## POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE *Moringa oleifera* Lam.: UMA REVISÃO DE LITERATURA

DOI: 10.47402/ed.ep.c202172813585

David de Oliveira Medeiros, Graduando em Ciências Biológicas, UFCG  
Leticia Carvalho Benitez, Doutora em Fisiologia vegetal, UFCG

### RESUMO

*Moringa oleifera* Lamarck é uma planta nativa do norte da Índia e encontrada em países tropicais. Popularmente conhecida como Árvore da Vida, é amplamente reconhecida pelo seu potencial nutricional e atividades biológicas. O objetivo deste trabalho foi verificar o potencial antibacteriano da *M. oleifera*, bem como a influência do solvente para o preparo de extratos, além dos mecanismos de ação contra bactérias. **Métodos:** A pesquisa foi realizada através de uma revisão bibliográfica de teses, dissertação, monografias e artigos publicados em periódicos internacionais e nacionais disponíveis em banco de dados online, somente foram consideradas publicações no período de tempo entre 2000 e 2020. **Resultados:** Foram selecionados 27 trabalhos que objetivaram avaliar o potencial antibacteriano de diferentes extratos da *M. oleifera*, observou-se a inibição do crescimento de diferentes espécies, principalmente *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O efeito antibacteriano dos extratos é derivado da presença de metabólitos secundários, como as fitoalexinas, moléculas com atividades farmacológicas e de origem natural encontradas nos tecidos de *M. oleifera*. O solvente desempenha um papel crucial para o preparo do extrato, uma vez que sua função é de extrair compostos presentes nos tecidos vegetais. Os mecanismos de ação antibacterianos são diversos, podendo afetar enzimas essenciais para o organismo ou através de modulações na membrana celular, afetando sua integridade e comprometendo a função biológica. **Conclusão:** A pesquisa torna evidente o potencial da *M. oleifera* na criação de novos fármacos com propriedades antibacterianas, visto que bactérias multirresistentes são um problema emergente para a saúde coletiva.

**Palavras-chave:** Extratos vegetais, Efeito antibacteriano, Metabólitos secundários

### INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins medicinais é uma prática presente desde os primórdios da humanidade e largamente difundida até os dias atuais. Segundo Bruelheide et al. (2018) há cerca de 390 mil espécies de plantas no mundo, porém, apesar da grande quantidade de espécies, estima-se que a humanidade se alimente apenas de 0,06% das plantas comestíveis (BBC Brasil, 2015). Deste modo, uma maior porcentagem das espécies vegetais é utilizada como recurso medicinal.

Em épocas mais remotas, na qual a medicina não se desenvolvera tanto, as práticas medicinais baseavam-se na utilização de plantas, sendo estas detentoras de propriedades que auxiliavam o homem no controle de diversas enfermidades. A prática terapêutica caracterizada pelo uso de plantas com propriedades medicinais foi denominada de fitoterapia (MIRANDA et al., 2015) e está amplamente presente na sociedade moderna. No entanto, as técnicas que se utilizam de fitoterápicos são mais difundidas em tribos indígenas e comunidades carentes que utilizam os recursos naturais como única alternativa de tratamento.

Com o avanço da medicina, a ciência busca cada vez mais conciliar as práticas medicinais baseadas em fitoterápicos com as técnicas modernas, difundindo, assim, a utilização destas pela sociedade. Há uma demanda cada vez maior por tratamentos alternativos na medicina (ZENI et al., 2017), que não sejam focados puramente em drogas de origem farmacêutica ou que apresentem uma maior viabilidade no quesito financeiro. Sendo assim, observa-se que os fitoterápicos estão se destacando cada vez mais no mercado farmacêutico, não somente pela sua ampla demanda, mas também por apresentarem uma alternativa saudável como recurso terapêutico, quando utilizado de forma adequada, controlado e com indicação profissional.

Com a constante busca por fitoterápicos, pesquisas de cunho científico que busquem verificar a eficácia de uma espécie vegetal para o uso medicinal se tornam de extrema importância, pois disponibilizam dados que possibilitam a criação de novos fármacos que podem apresentar maior ação no combate a diversos agentes patogênicos, tais como bactérias e fungos, responsáveis por diversas doenças no cotidiano da população humana. Assim, a utilização de espécies vegetais no controle de patógenos microbianos se torna uma opção de importância à saúde pública.

A medicina moderna utiliza essencialmente medicamentos alopáticos, estes geram, no organismo, efeitos contrários ao da doença apresentada pelo paciente. De forma semelhante aos tratamentos que utilizam alopáticos, os fitoterápicos também buscam promover ações contrárias no organismo, contrapondo aquelas de origem patogênica. No entanto, estas duas técnicas diferem devido quando à sua natureza, sendo os fitoterápicos de origem vegetal. Segundo Yunes, Pedrosa e Cechinel Filho (2001), o mercado mundial de fitoterápicos cresce gradativamente, principalmente em países desenvolvidos, fato este que pode ser atribuído ao alto investimento em pesquisas de espécimes vegetais que apresentam potencial farmacêutico.

Por outro lado, o mercado de fitoterápicos no Brasil não apresenta resultados satisfatórios, pois há escassez de pesquisas científicas que comprovem a eficácia dos mesmos, não apresentando validação clínica que promova o uso destes produtos naturais. Porém, contrapondo a escassez dos fitoterápicos produzidos por indústrias brasileiras, aproximadamente 82% da população do Brasil faz uso de produtos oriundos de plantas medicinais para diversos fins (BATISTA; VALENÇA, 2012). Essa vasta utilização reforça a necessidade de um maior investimento nessa indústria, fortalecendo a validação clínica através de pesquisas científicas, ampliando não só a fabricação dos fitoterápicos em território nacional, mas também expandido sua utilização ao próprio Sistema Único de Saúde (SUS).

As plantas medicinais contam com compostos derivados do seu metabolismo que são responsáveis por fornecer suas propriedades medicinais, podendo inibir ou matar patógenos, acelerar o processo de cicatrização, amenizar processos inflamatórios, dentre diversas outras propriedades. Estes compostos são chamados de metabólitos secundários, sendo um grupo de moléculas que possuem atividades biológicas responsáveis pela defesa e adaptação da planta, não apresentando papel direto no desenvolvimento em si, como é o caso dos metabólitos primários (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Segundo Arnous, Santos e Beinher (2005), há diversas espécies de plantas medicinais de uso local, em especial nas regiões tropicais da América Latina. O Brasil destaca-se como o país que apresenta a maior riqueza de espécies que compõe a flora nacional. Em 2008, teve início o projeto Lista de Espécies da Flora do Brasil, coordenado pelo Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Tal projeto foi encerrado em 2015 e possibilitou que mais de 400 taxonomistas trabalhassem juntos para realização de um levantamento de dados sobre a flora nacional.

Após encerrar o projeto, foi identificada uma grande quantidade de espécies para a flora nacional, sendo, no momento, reconhecidas 49.270 espécies (FLORA DO BRASIL EM CONSTRUÇÃO, 2020). Este foi o maior trabalho de verificação da diversidade da flora desde a produção do livro *Flora Brasiliensis*, escrito entre 1840- 1906 e produzido por Carl Friedrich Philipp von Martius, August Wilhelm Eichler e Ignatz Urban.

Entre as plantas medicinais que podem ser encontradas atualmente no Brasil, o Lírio-branco, Cedro ou Moringa vem recebendo destaque cada vez maior devido às vastas aplicações nutricionais e medicinais que são atribuídas às suas raízes, cascas, folhas, flores, frutos e sementes (MACEDO et al., 2010). Entretanto, mesmo recebendo destaque popular

devido aos seus benefícios para a saúde, ainda há carência de estudos científicos que de fato comprovem a eficácia destas plantas para a saúde humana. Justamente por essa carência de comprovação científica é que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) proibiu, em 2019, a fabricação, importação, comercialização, propaganda e distribuição de qualquer produto que contenha Moringa, prevendo multa de R\$ 2 mil a R\$ 1,5 milhão de reais para qualquer cidadão que viole essa proibição, tal feito reforça ainda mais a necessidade de pesquisas científicas que busquem atribuir comprovação e segurança para a utilização de plantas medicinais (ANVISA, 2019).

*Moringa oleifera* Lamarck, pertencente à família Moringaceae, é uma planta arbórea nativa do norte da Índia encontrada em diversos países tropicais de baixa altitude, incluindo-se regiões áridas e semiáridas (FRIGHETTO et al., 2007). A espécie foi introduzida no Brasil por volta de 1950, sendo amplamente distribuída na região Nordeste (VASCONCELOS, 2013). É uma planta rústica, de fácil propagação e de crescimento relativamente rápido, podendo alcançar 6 metros de altura na idade adulta. A multiplicação e a implantação de cultivos racionais de *M. oleifera* podem ser feitos através de sementes ou por reprodução assexuada, através de estaquia (DELDUQUE, 2000).

Deste modo, com a crescente demanda de pesquisas científicas sobre o uso dos fitoterápicos e a vasta utilização medicinal da Moringa no Brasil, o presente estudo fornece dados referentes a experimentos que realizaram testes com o objetivo de verificar o potencial antibacteriano de extratos que utilizaram Moringa para promover a inibição de diversos microrganismos patogênicos, responsáveis por assolar a saúde do ser humano.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A presente pesquisa trata-se de um trabalho qualitativo de revisão bibliográfica revisão bibliográfica do tipo sistemática realizada por meio de levantamento e análise de publicações científicas nacionais e internacionais. A construção do trabalho percorreu diversas etapas adaptadas de Paula et al. (2017). Na primeira etapa procedeu-se a caracterização pela identificação do tema e hipóteses, formulando, assim, uma questão central de pesquisa. A questão norteadora do trabalho foi: O extrato de *Moringa oleifera* possui propriedades que promovam ação antibacteriana?

Na segunda etapa foi realizado o estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão de pesquisas, à fim de realizar a busca na literatura. Para o presente estudo, optou-se por

incluir na pesquisa somente trabalhos com texto completo, podendo ser do tipo artigo científico ou dissertações e teses de pós-graduação, publicados no período de 2000 a 2020, em língua portuguesa, espanhola ou inglesa. Dos trabalhos encontrados, foi imposta a condição de que o mesmo incluísse testes experimentais para verificar o potencial antimicrobiano da *Moringa oleifera*.

Não houve restrição acerca dos extratos vegetais, deste modo, extratos com diferentes solventes, concentrações e partes da planta foram válidos e analisados, contribuindo para a análise final do potencial antimicrobiano da espécie vegetal em questão. No levantamento bibliográfico, dos trabalhos avaliados, foram utilizados os seguintes descritores: atividade antibacteriana de *Moringa oleifera* / *antibacterial effect of Moringa oleifera*.

Para realização da pesquisa foram utilizados os seguintes bancos de dados *online*: Google Scholar, Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *Education Resources Information Center* (ERIC), Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD), *Government Science Portal* (Science.gov), *Science Research* (ScienceResearch.com), *Scopus Preview* e *National Library of Medicine* (PubMed.gov).

Na terceira etapa, uma vez realizada a pesquisa rigorosa na literatura, foi feita uma leitura criteriosa dos trabalhos, verificando se todos os selecionados cumpriam os requisitos para inclusão na pesquisa. Após a certificação de que cada um dos trabalhos estava apto a ser incluso, realizou-se a interpretação dos resultados, sendo esta fase correspondente a resultados e discussão em uma pesquisa convencional marcando, assim, a última etapa do processo metodológico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o momento, foram realizados numerosos estudos com o objetivo de avaliar a atividade antimicrobiana dos diversos tecidos da *Moringa oleifera* na inibição de diferentes espécies de microrganismos. Dos trabalhos selecionados para o presente estudo, foram identificados os seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella enteritidis*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Citrobacter freundii*, *Bacillus*

*megaterium, Pseudomonas fluorescens, Salmonella enterica, Shigella dysenteriae, Proteus mirabilis, Aeromonas hydrophila e Providencia stuartii.*

## **EXTRATOS VEGETAIS**

A utilização de extratos vegetais é uma prática antiga para o combate de enfermidades que assolam o ser humano. Para a produção de um extrato vegetal são descritas inúmeras técnicas e métodos que apresentam suas semelhanças e singularidades. No entanto, alguns passos são indispensáveis para todos os pesquisadores, sendo estes a obtenção do material botânico desejado e escolha de um solvente, sendo essa escolha extremamente importante e dependente de uma rigorosa revisão na literatura, que possa nortear o pesquisador para o solvente mais adequado.

Para a produção de um extrato vegetal há uma gama de opções, sendo as principais técnicas a maceração, infusão, decocção, digestão, percolação, extração, destilação e secagem. Todos os procedimentos, bem como as recomendações sobre medidas, porcentagem de material vegetal e demais orientações para criação e utilização de testes envolvendo extratos vegetais estão descritas na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (ANVISA, 2010).

O extrato poderá ser submetido a uma triagem fitoquímica, com o objetivo de identificar e quantificar a presença de determinados compostos presentes na amostra ou ser submetido a testes laboratoriais para testar o potencial de inibição do crescimento de bactérias, fungos e outros microrganismos, além de verificar a atividade oxidante. Portanto, o preparo e a utilização do extrato vegetal são totalmente dependentes do tipo de estudo realizado. Ainda assim, é importante ressaltar que qualquer tipo de extrato, para apresentar uma boa resposta, deve possuir uma boa quantidade de metabólitos secundários do material botânico utilizado.

Os metabólitos secundários desempenham um importante papel nos mecanismos de defesa vegetal, podendo agir no combate a determinados patógenos, sendo assim, essas moléculas despertam interesse humano, pois podem ser utilizadas para a fabricação de fármacos com o intuito de combater determinadas infecções causadas por patógenos. Uma vez que o extrato tem como objetivo retirar compostos bioativos da planta, com o intuito de verificar sua atividade biológica, não só o seu preparo demanda de estudo, mas também seu próprio armazenamento, evitando que este seja exposto a determinadas condições ambientais, visto que alguns compostos bioativos podem ser sensíveis à evaporação, oxidação ou degradação na presença de luz e altas temperaturas (SANTOS, 2018).

A presente pesquisa avaliou 27 (vinte e sete) trabalhos que buscaram verificar o potencial antibacteriano da *M. oleifera*. Entre os trabalhos avaliados, foi possível observar uma variação entre as metodologias adotadas por cada autor, incluindo variações na escolha do solvente, na parte vegetal e das proporções para o preparo do extrato vegetal.

A escolha de um bom solvente é essencial para a obtenção de um bom extrato, uma vez que a extração de moléculas bioativas é que vai conferir atividade biológica para o mesmo. Segundo Martins, Lopes e Andrade (2013), a solubilidade das espécies orgânicas é um fator extremamente importante na escolha do solvente para determinada substância, uma vez que solutos apolares se dissolvem melhor em solventes apolares, enquanto que os solutos polares devem ser extraídos com solventes polares.

Após análise dos trabalhos selecionados, verificou-se a frequência de utilização de cada solvente para ensaios de atividade antibacteriana de extratos de *M. oleifera*. Os autores utilizaram com maior frequência a água destilada para a produção de extratos aquosos, fator este que pode ser atribuído a capacidade excepcional da água como solvente, sendo a mesma capaz de dissolver uma variedade de substâncias polares. Patel et al (2014), realizou uma análise fitoquímica e avaliou o potencial antibacteriano do extrato de folhas de *M. oleifera* em diferentes solventes. A análise fitoquímica do estudo revelou a presença de alcaloides, flavonoides, carboidratos, glicosídeos, saponinas, taninos e terpenoides. Além disso, o extrato aquoso inibiu seis das sete bactérias selecionadas, sendo esta atividade atribuída ao potencial de solvente da água, tornando o extrato aquoso rico em biomoléculas ativas que expressaram mecanismos de combate bacteriano frente os organismos selecionados.

Em seguida, o segundo solvente mais utilizado foi o etanol, sendo este extremamente eficaz, já que é solúvel em água e é polar, mas também é eficiente em outros compostos com caráter apolar, característica essa que o etanol detém por contar com uma porção polar e uma apolar em sua estrutura química, sendo, portanto, um solvente com serventia dupla, sendo um dos mais utilizados na criação de extratos vegetais.

Frequentemente, a atividade antibacteriana de uma espécie vegetal é proveniente de componentes fitoquímicos ativos, tal como os polifenóis, o que reforça a efetividade do etanol como solvente, visto que tais componentes são facilmente solúveis em etanol (PIYAMAWADEE; ONG-AHT, 2020).

Ainda no que concerne aos solventes mais utilizados, em terceira posição registrou-se o metanol, um composto orgânico da família dos álcoois, é polar e extremamente solúvel em água, frequentemente é utilizado como solvente industrial, assemelhando-se ao etanol em alguns pontos, porém, tem um teor de toxicidade maior (ANP, 2019). Arévalo-Híjar et al. (2018), utilizou metanol absoluto para produzir um extrato com as folhas de *M. oleifera*, o extrato apresentou efeito antibacteriano melhor do que o antibiótico usado como controle. Dessa forma, o extrato metanólico não apresentou nenhum grau de toxicidade se usado em baixa concentração, reforçando sua eficácia e possível aplicabilidade no mercadofarmacêutico.

Outro solvente que apresentou resultados consistentes e satisfatórios foi o acetato de etila, é um éster simples com larga aplicação industrial, sua estrutura química conta com duas moléculas de oxigênio com distribuição distinta de elétrons, criando áreas diferentes no momento do dipolo elétrico, sendo a molécula classificada como orgânica. É frequentemente utilizado como solvente de thinners e tintas, mas também apresenta boa viabilidade como solvente em extratos vegetais, devido sua capacidade em assimilar diversas moléculas.

Zaffer et al. (2014), realizou ensaios da atividade antibacteriana de extratos feitos a partir da casca de *M. oleifera* com a utilização de diferentes solventes, objetivando verificar não somente o potencial de inibição bacteriano, mas também o efeito dos diferentes solventes ao avaliar a atividade do extrato. Após os ensaios, constatou-se que o extrato da casca de *M. oleifera* obtido com acetato de etila, foi extremamente eficaz contra as cepas de bactérias selecionadas. Além disto, Abdallah (2015) verificou as propriedades antibacterianas do extrato de folhas de *M. oleifera* com a utilização de diferentes solventes contra bactérias gram-negativas e gram-positivas, observando que o extrato com acetato de etila apresentou maior efeito de ação antibacteriano contra as cepas de bactérias gram-negativas e positivas.

Dessa forma, o acetato de etila é capaz de extrair um bom número de compostos bioativos, principalmente compostos fenólicos, alcaloides, saponinas e outros metabólitos secundários, devido suas propriedades polares e apolares. Porém, é necessário avaliar se o potencial do extrato com acetato de etila realmente é promissor pela interação do solvente com os solutos ou por questões de toxicidade, avaliações mais profundas se fazem necessárias para avaliar tal quesito, em caso de confirmação de toxicidade, faz-se necessário purificar o extrato.

Com isso em mente, nota-se que a polaridade do solvente é um fator extremamente decisivo para a ação do extrato vegetal, visto que este é o responsável por carregar os compostos bioativos do material vegetal. Dessa maneira, torna-se compreensível que o preparo

do extrato vegetal é um procedimento extremamente delicado e importante para a realização de testes posteriores.

A escolha do solvente deve ser realizada com base nos metabólitos que o pesquisador deseja obter, sendo estes definidos a partir da literatura disponível sobre a atividade biológica de cada metabólito secundário da espécie em questão. Conseqüentemente, para verificar a eficácia antibacteriana de um extrato de *M. oleifera*, o cientista deverá antes procurar quais metabólitos estão envolvidos nos mecanismos de defesa contra bactérias e então escolher um solvente que consiga extrair melhor estas moléculas, a escolha deverá ser feita com base na polaridade dos solutos e do solvente, permitindo que ocorra uma interação ideal para a extração de moléculas bioativas.

## POTENCIAL ANTIBACTERIANO

Uma série de estudos já registrou a atividade antibacteriana da *M. oleifera* frente a bactérias selecionadas, conseguindo inibir satisfatoriamente o crescimento de bactérias gram-negativas e gram-positivas. Além da inibição bacteriana, a *M. oleifera* também demonstrou ser eficaz no combate aos fungos, uma vez que seu extrato aquoso de folhas conseguiu inibir o crescimento de *Aspergillus flavus*, *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium sp.*, *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis* (AL\_HUSNAN; ALKAHTANI, 2016).

Apesar da ausência de um sistema imunológico complexo similar ao dos animais, as plantas contam com uma série de mecanismos físicos e químicos para sua proteção. A produção de espinhos e acúleos são exemplos de defesas físicas contra animais de grande e médio porte. Todavia, uma vez que as plantas também sofrem ataques fúngicos, bacterianos e virulentos, contam com defesas químicas capazes de inibir satisfatoriamente a ação destes microrganismos, visto que podem prejudicar o metabolismo vegetal em inúmeros aspectos, mas principalmente com a redução da taxa fotossintética. Portanto, a neutralização de microrganismos patogênicos é essencial para a homeostase do organismo vegetal.

Entre as defesas químicas apresentadas pela planta, destaca-se a presença de fitoalexinas nos mais diversos tecidos vegetais em diferentes famílias botânicas. Essas moléculas constituem um grande grupo de metabólitos secundários, tal como os flavonoides e terpenos, com atividade antimicrobiana. Segundo Taiz et al. (2017), as fitoalexinas somente manifestam

ação e são possíveis de detecção após ataque microbiano, antes disso são indetectáveis, mas com o ataque se expressam e exercem função biológica no combate ao agente invasor.

Os mais diversos tecidos de *M. oleifera* apresentam uma variabilidade de metabólitos secundários com potencial antimicrobiano, contando com fitoalexinas como flavonoides, alcaloides, cumarinas, glicosídeos, compostos fenólicos, taninos, esteroides e terpenoides, além de óleos voláteis que apresentam misturas de metabólitos (KORUTHU et al., 2011; PATEL, N. et al., 2014; ARORA; ONSARE, 2014; AMABYE; TADESSE, 2016; DZOTAM; TOUANI; KUETE, 2016).

Os flavonoides constituem um grande grupo de biomoléculas de origem natural com efeitos antibacterianos, sua estrutura básica é composta por um difenilpropano, mas podem ser encontrados em diversas estruturas derivadas devido ao grau de variabilidade do grupo, os principais são os flavones, flavonóis, flavononas, flavano 3-ols e chalcones (FARHADI et al., 2018).

Os mecanismos de ação antibacteriana dos flavonoides são diversos, podem agir de modos distintos dependendo da sua estrutura química e do balanço hidrofílico-lipofílico da molécula, uma vez que estes influenciam diretamente no potencial da atividade antibacteriana (RESENDE, 2011). Uma das principais características dessas moléculas é o seu sinergismo com outros antibióticos. Posto que os flavonoides atuem favorecendo suas ações no combate as bactérias, este sinergismo sugere potencial para a criação de fármacos que combinem os flavonoides com outros antibióticos, intensificando sua ação (FARHADI et al., 2018).

Segundo Flambó (2013), os flavonoides são capazes de modular a atividade de determinadas enzimas que são expressas pelas bactérias, afetando todo o sistema biológico e suas atividades. Corroborando estes dados, Wang et al. (2010), verificou que uma isoflavona extraída da soja foi capaz de inibir consideravelmente a atividade de uma DNA topoisomerase através da formação de diversos complexos que interferiam em ligações com essa enzima, tornando-a parcialmente inativa e prejudicando o metabolismo celular da bactéria.

A quercetina é um tipo de flavonoide que demonstra alto potencial antibacteriano, visto que consegue ligar-se na subunidade GyrB da enzima DNA girase de *E. coli*, inibindo a atividade ATPase da enzima e impedindo que a DNA girase exerça sua função biológica (PLAPER et al., 2003). Além da atividade direta em ácidos nucleicos, Tsuchiya e Inuma (2000) demonstraram que a soforaflavononaG foi capaz de alterar a fluidez da membrana celular de

*Spreptococcus*, realizando alterações em áreas hidrofílicas e hidrofóbicas da membrana, reduzindo a fluidez de camadas internas e externas e afetando atividades biológicas da bactéria, dado que determinadas funções dependem do caráter fluído da membrana.

As cumarinas integram um dos maiores grupos de metabólitos secundários encontrados nas plantas. Essas moléculas possuem origem através do metabolismo da fenilalanina, sendo o ácido p-hidróxi-cinâmico um dos primeiros precursores, sendo, o mesmo, hidroxilado no segundo carbono. A cumarina mais amplamente conhecida é a 1,2-benzopirona, porém suas variações estruturais resultaram nomenclatura de diferentes classes de cumarinas: cumarinas simples, piranocumarinas, furanocumarinas e cumarinas miscelâneas (SOUZA, 2005).

Mais de 400 cumarinas novas foram reportadas no período entre 2014 e 2015 (SARKER; NAHAR, 2017). Portanto, são metabólitos que apresentam uma boa empregabilidade farmacêutica, uma vez que as cumarinas possuem inúmeras atividades biológicas, contando com relatos de atividade antioxidante, anticoagulante, anti-inflamatória e antimicrobiana.

Alves (2015) avaliou o potencial antibacteriano da 1,2-benzopirona e 4- coumarinol frente a cepas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonasaeruginosa*, verificando que as cumarinas foram capazes de inibir satisfatoriamente o crescimento das linhagens bacterianas utilizadas, apresentando efeito contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Outras cumarinas também apresentam eficácia comprovada frente a bactérias, em virtude das substituições na estrutura química de uma cumarina simples resultarem na modulação do seu potencial antimicrobiano, principalmente, substituições no anel básico (SOUZA, 2005).

Os mecanismos de inibição bacteriana das cumarinas ainda são pouco explorados, visto que o grupo conta com inúmeras moléculas. Porém, estudos anteriores demonstraram que os antibióticos com cumarinas integram um grupo de biomoléculas capazes de inibir a topoisomerase, tendo como alvo principal a DNA girase. O mecanismo de inibição ocorre pela ligação do antibiótico com uma subunidade da DNA girase bacteriana, resultando na inibição de sua atividade ATPase, essa inibição é especialmente eficaz contra cepas de *Staphylococcus aureus* (LONG, 2003).

Outras moléculas que apresentam potencial antimicrobiano são as saponinas, as quais compõe um grupo estruturalmente diversificado de glicosídeos que podem ser de esteroides ou triterpenoides. A composição química e estrutural das cumarinas está relacionada com a

condição genética, idade e condição fisiológica do vegetal. Representam um dos principais grupos de metabólitos secundários encontrados nas plantas, suas funções abrangem uma gama de atividades biológicas, contando com atividade moluscicida, antioxidante, antiinflamatória, alelopática, antiviral, antiparasita, herbicida, antifúngica e antibacteriana (HARALAMPIDIS; TROJANOWSKA; OSBOURN, 2002).

A atividade antimicrobiana das saponinas é mais elevada contra fungos, mas também é notável contra bactérias. A inibição ocorre através da sua interação com outras moléculas, principalmente com esteroides, ocasionando a formação de complexos com ergosterol e colesterol. Por consequência, a interação das saponinas com colesterol presentes na membrana ocasiona a formação de poros que resultam na perda da integridade da membrana, levando a morte celular (RIBEIRO et al., 2013).

A niazirina e niaziridina são dois glicosídeos com potencial antimicrobiano e que apresentam sinergia com diversos antibióticos. Em ensaios realizados em laboratório, estes glicosídeos alteraram a permeabilidade da membrana celular através da regulação de genes específicos. Além disso, verificou-se que houve inibição das bombas de efluxo em *E. coli*, essa condição aumenta a vulnerabilidade de bactérias frente a outros antibióticos, visto que as bombas desempenham um importante papel na resistência bacteriana (DWIVEDI et al., 2019).

Os terpenos representam uma ampla classe de metabólitos secundários encontrados nas plantas, contando com mais de 50.000 moléculas já identificadas. São formados a partir do ácido mevalônico e contam com o isopreno em sua estrutura química, são majoritariamente cíclicos. O timol e o carvacrol são dois terpenos amplamente estudados e já utilizados para inibir o crescimento de cepas de *E. coli*, constatando-se que são capazes de atravessar a membrana celular bacteriana, causando perturbações e deformações na membrana, fator que altera a sua permeabilidade e pode causar a morte celular (BUENO-SÁNCHEZ; MARTÍNEZ-MORALES; STASHENKO, 2009; LIMA et al., 2017; ALMEIDA, 2015; DICKSCHAT, 2016).

Taninos são metabólitos secundários que integram a classe dos compostos polifenólicos e estão presentes em diversos tecidos vegetais, incluindo as folhas de *M. oleifera* (PATEL, N. et al., 2014). Devido seu caráter fenólico, os taninos possuem elevada facilidade em estabelecer ligações com outras moléculas através de ligações de hidrogênio. Podem ser divididos em quatro classes distintas, os galotaninos, elagitaninos, taninos complexos e taninos condensados. Sabe-se que sua principal função é evitar herbivoria vegetal, mas também apresentam

potencial de ação antimicrobiano (KHANBABAE; VAN REE, 2001; MONTEIRO et al., 2005).

As propriedades antibacterianas dos taninos são amplamente estudadas, essas moléculas conseguem desestabilizar o metabolismo de fungos, bactérias e vírus de diferentes modos. Inicialmente, foi verificado que o caráter fenólico dos taninos permite que façam uma série de ligações com outras moléculas, induzindo a formação de complexos com enzimas ou substratos, fator este que afeta diretamente o metabolismo do organismo, uma vez que as reações químicas são drasticamente alteradas e reduzidas pelos complexos formados (AKIYAMA et al., 2001).

Além da interação com as enzimas e os substratos do meio intracelular, os taninos também podem interagir com as proteínas presentes na membrana celular da bactéria, ocasionando deformações e comprometendo as funções da membrana. Também apresentam uma enorme afinidade com íons metálicos, gerando complexos com diversos íons que desempenham papel como cofatores enzimáticos. Podem, ainda, atuar captando oxigênio ativo, contribuindo para a formação de radicais estáveis que comprometem processos biológicos (AKIYAMA et al., 2001; PIZZI, 2008). Similarmente, são capazes de inibir o funcionamento de enzimas virais, posto que galotaninos apresentam atividade anti-HIV por inibirem a transcriptase reversa, reduzindo a replicação viral (MONTEIRO et al., 2005).

Os alcaloides são compostos nitrogenados com origem natural, podem ser encontrados em plantas, fungos, bactérias e alguns animais. Assim como outros metabólitos secundários, também apresentam diversas atividades biológicas, mas são principalmente utilizados na criação de drogas antibacterianas. Além dos diversos alcaloides presentes nos tecidos de *M. oleifera*, sua casca contém dois alcaloides característicos, a moringina e a moringinina (FÁTIMA et al., 2014 apud SHUKLA et al., 1988).

A atividade antibacteriana dos alcaloides é amplamente pesquisada em razão de apresentarem potencial farmacêutico frente algumas bactérias multirresistentes. O medicamento TMC207 possui um alcaloide em sua composição, a quinona. Essa molécula é responsável por danificar a bomba de prótons que sintetiza adenosina trifosfato (ATP) na *Mycobacterium tuberculosis*, fator este que inibe a síntese de ATP da bactéria. O imizadol, alcaloide amplamente utilizado em fármacos, consegue inibir a biossíntese do ácido micólico que é essencial para a formação da parede celular, ocasionando a morte celular (KITTAKOOP; MAHIDOL; RUCHIRAWAT, 2014).

Além desses mecanismos, verificou-se que as quinonas são capazes de inibir a síntese da DNA girase. Similarmente, a oxazolidina consegue inibir a fase inicial da síntese de proteínas, impedindo que enzimas essenciais sejam expressas pela bactéria. Já a classe das indozilidinas, os alcaloides pergularinina e tiloforinidina conseguiram inibir a enzima dihidrofolato redutase, impossibilitando a síntese de ácidos nucleicos (KITTAKOOP; MAHIDOL; RUCHIRAWAT, 2014; RAO; VENKATACHALAM, 2000).

Apesar da presença de diversos metabólitos secundários com atividade antimicrobiana, acreditava-se que o principal fator que induzia atividade antibacteriana nos tecidos de *M. oleifera* fosse a pterigospermina. Entretanto, uma investigação conduzida por Horwath e Benin (2011), buscou verificar a presença dessa molécula nos tecidos da *M. oleifera*. Após análises químicas, não foi possível identificar a pterigospermina e constatou-se que essa estrutura não é viável de isolamento, armazenamento e caracterização.

Posteriormente, o composto responsável pela atividade antibacteriana da *M. oleifera* foi identificado como uma molécula da classe dos Isotiocianatos (ITCs), que são compostos originados a partir da conversão de glicosinolatos. A 4-( $\alpha$ -L- rhamnosyloxy) — benzyl-isothiocyanate é uma molécula da classe dos ITCs, especificamente uma Benzil-Isotiocianato (BITC), à qual foi atribuída como principal responsável pela atividade antibacteriana em extratos de *M. oleifera* (VIEIRA et al., 2010; ARÉVALO-HÍJAR et al., 2018; BUKAR; UBA; OYEYI, 2010).

O mecanismo de ação antibacteriano do BTIC está relacionado com a sua capacidade de regular a expressão de determinados genes e proteínas. As proteínas que contam com uma porção tiol são alvos principais do BTIC e sofrem alterações estruturais que comprometem sua função biológica. Como consequência, o metabolismo aumenta drasticamente a expressão de genes que codificam proteínas de choque térmico (HSP), conhecidas como chaperonas, que desempenham um papel fundamental ao auxiliar o dobramento de proteínas e são expressas em larga escala na tentativa de restaurar os danos estruturais causados pelo BTIC em proteínas com porção tiol (DUFOR et al., 2013).

Entretanto, a regulação de genes que codificam as HSP para restaurarem as proteínas danificadas pelo BTIC ocasiona o aumento constante da concentração de ATP, fator este que colabora para a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO). As EROs são produzidas em condições normais do metabolismo e funcionam como mediadores de sinalização, mas em

altas concentrações provocam danos em diversas moléculas, ocasionando uma situação de estresse oxidativo(RIBEIRO et al., 2005).

Em virtude do consumo excessivo de ATP para produção de proteínas chaperonas, as EROs passam a se acumular no organismo e causam uma situação de estresse oxidativo na bactéria. Em resposta ao estresse oxidativo, enzimas como a dissulfeto redutase, p66, catalase e peroxidase são expressas para neutralizarem os danos causados pelas EROs, contudo, o BTIC também consegue afetar a estrutura dessas proteínas, ocasionando sua inativação e contribuindo para o acúmulo das espécies reativas de oxigênio, provocando oxidação de proteínas e lipídios, levando a morte celular da bactéria (RODRIGUES, 2010; RIBEIRO et al., 2005; DUFOUR et al., 2013; AGUIAR, 2012).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Inúmeros estudos são realizados com o objetivo de averiguar o potencial antimicrobiano de espécies vegetais, visando sua aplicabilidade no mercado farmacêutico. Uma vez que as bactérias aumentam progressivamente sua resistência frente aos antibióticos, a criação de novas drogas com propriedades antibacterianas é de extrema importância para a regulação das condições de saúde coletiva, dado que as bactérias multirresistentes são um problema emergente na sociedade.

Deste modo, conclui-se que a *Moringa oleifera* é uma espécie vegetal com características antimicrobianas de interesse farmacêutico, em virtude de seus tecidos serem dotados de fitoquímicos que apresentam atividade antibacteriana, como as fitoalexinas. Estudos experimentais mais profundos devem ser realizados para análise dos efeitos antimicrobianos, como também sua interação com outros antibióticos. Além disso, para a criação de novas drogas utilizando *Moringa oleifera*, o solvente utilizado deve possuir uma boa afinidade de polaridade com os metabólitos que serão extraídos, tornando o produto final rico em compostos que inibam satisfatoriamente o crescimento bacteriano.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil, através de bolsa de iniciação científica do programa PIBIC/CNPq-UFCG – 2019/2020.

## REFERÊNCIAS

ABDALLAH, E. M. Antibacterial Properties of Leaf Extracts of *Moringa oleifera* Lam. Growing in Sudan. **Journal Of Advances In Medical And Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 1, p. 1-5, 10 jan. 2015. <http://dx.doi.org/10.9734/jamps/2016/21386>.

AGUIAR, N. D. da C. **Impacto do isotiocianato de alila sobre a comunidade microbiana e indicadores microbiológicos do solo**. 133 f. Tese (Doutorado) — em *Doctor Scientiae*, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

AKIYAMA, H. et al. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 48, n. 4, p. 487- 491, 2001.

AL\_HUSNAN, L. A.; ALKAHTANI, M. D. F. Impact of *Moringa* aqueous extract on pathogenic bacteria and fungi in vitro. **Annals Of Agricultural Science**, v. 61, n. 2, p. 247-250, dez. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aogas.2016.06.003>.

ALMEIDA, R. R. **Mecanismos de ação dos monoterpenos aromáticos: timol e carvacrol**. 26 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal de São João Del-Rei, São João Del-Rei, 2015.

ALVES, R. E. **Investigação dos efeitos antibacteriano e citotóxico de cumarinas**. 40 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

AMABYE, T. G.; TADESSE, F. M. Phytochemical and Antibacterial Activity of *Moringa Oleifera* Available in the Market of Mekelle. **Journal Of Analytical & Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 1, p. 23-26, 5 fev. 2016. <http://dx.doi.org/10.15406/japlr.2016.02.00011>.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE nº 1.478/2019 de 07 de outubro de 2019**. Proibidos alimentos com *Moringa oleifera*.

ARÉVALO-HÍJAR, L. et al. Antibacterial and Cytotoxic Effects of *Moringa oleifera* (*Moringa*) and *Azadirachta indica* (*Neem*) Methanolic Extracts against Strains of *Enterococcus faecalis*. **International Journal Of Dentistry**, v. 2018, p. 1-5, 25 set. 2018. <http://dx.doi.org/10.1155/2018/1071676>.

ARNOUS, A.H.; SANTOS, A.S.; BEINNER, R.P.C. Plantas medicinais de uso caseiro - Conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, v.6, n.2, p.1-6, 2005.

ARORA, D. S.; ONSARE, J. G. In vitro antimicrobial evaluation and phytoconstituents of *Moringa oleifera* pod husks. **Industrial Crops And Products**, v. 52, p. 125-135, jan. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.016>.

BATISTA, L. M.; VALENÇA, A. M. G. A fitoterapia no âmbito da atenção básica no SUS: realidades e perspectivas. **Pesquisa brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 12, n. 2, p. 293-296, 2012.

**BBC BRASIL.** 11 de agosto de 2015. Disponível em: <[https://www.bbc.com/portuguese/noticias/2015/08/150811\\_plantas\\_consumo\\_fn#or\\_banner](https://www.bbc.com/portuguese/noticias/2015/08/150811_plantas_consumo_fn#or_banner)> Acesso em: 12 de janeiro de 2020.

BRUELHEIDE, H. et al. Global trait–environment relationships of plant communities. **Nature Ecology & Evolution**, v. 2, n. 12, p.1906-1917, 19 nov. 2018.

BUENO-SÁNCHEZ, J. G.; MARTÍNEZ-MORALES, J. R.; STASHENKO, E. Atividade antimicobacteriana de terpenos. **Revista da Universidade Industrial de SantanderSaúde**, v. 41, n. 3, pág. 231-235, 2009.

BUKAR, A.; UBA, A.; OYEYI, T. I. Antimicrobial profile of moringaoleiferalam. Extracts against some food borne microorganisms. **Bayero Journal Of Pure And Applied Sciences**, v. 3, n. 1, p.43-48, jun. 2010.

DELDUQUE, M. Ficha da Planta: Moringa. **Globo Rural**, v.175 (Maio), p.89-91,2000.

DEVI, S. G. et al. Antibacterial activity of the leaves, bark, seed and flesh of moringa oleifera. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research**, v. 2, n. 8, p. 2045-2049, 1 ago. 2011. [http://dx.doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.2\(8\).2045-49](http://dx.doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.2(8).2045-49).

DICKSCHAT, J. S. Bacterial terpene cyclases. **Natural product reports**, v. 33, n. 1, p. 87-110, 2016.

DUFOUR, V. et al. Insights into the mode of action of benzyl isothiocyanate on *Campylobacter jejuni*. **Applied and environmental microbiology**, v. 79, n. 22, p. 6958-6968, 2013.

DWIVEDI, G. R. et al. Comparative Drug Resistance Reversal Potential of Natural Glycosides: Potential of Synergy Niaziridin & Niazirin. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 19, n. 10, p. 847-860, 2019.

DZOTAM, J. K.; TOUANI, F. K.; KUETE, V. Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. **Bmc Complementary And Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-8, dez. 2016. <http://dx.doi.org/10.1186/s12906-016-0990-7>.

ELGAMILY, H. et al. Microbiological Assessment of Moringa Oleifera Extracts and Its Incorporation in Novel Dental Remedies against Some Oral Pathogens. **Open Access Macedonian Journal Of Medical Sciences**, v. 4, n. 4, p. 585-590, dez. 2016. <http://dx.doi.org/10.3889/oamjms.2016.132>.

FARHADI, F. et al. Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activityrelationship: An update review. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 1, p. 13-40, 2019.

FAROOQ, B.; KOUL, B. Comparative analysis of the antioxidant, antibacterial and plant growth promoting potential of five Indian varieties of *Moringa oleifera* L. **South African Journal Of Botany**, v. 129, p. 47-55, mar. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2018.12.014>.

FLAMBÓ, D. F. A. L. P. **Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Antimicrobiana**. 43 f. Dissertação (Mestrado) - em Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

**Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >.

FRIGHETTO, R. T. S. et al. O Potencial da Espécie *Moringa oleifera* (Moringaceae). I. A Planta como Fonte de Coagulante Natural no Saneamento de Águas e como Suplemento Alimentar. **Revista Fitos**, v.3, n.2, 78-88, 2007.

GORLACH-LIRA, K.; ANDRADE, T. M. de. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO DE SEMENTES DE LÍRIO BRANCO (*Moringa oleifera*) E SEU USO NO TRATAMENTO DE ÁGUA. **Anais do Congresso Brasileiro de Gestão Ambientale Sustentabilidade**, João Pessoa, v. 5, p. 526-534, dez. 2017.

HARALAMPIDIS, K.; TROJANOWSKA, M.; OSBOURN, A. E. Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants. In: **History and Trends in Bioprocessing and Biotransformation**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2002. p. 31-49.

HORWATH, M.; BENIN, V. Theoretical investigation of a reported antibiotic from the “Miracle Tree” *Moringa oleifera*. **Computational and theoretical Chemistry**, v. 965, n. 1, p. 196-201, 2011.

KEKUDA et al. Antibacterial and Antifungal efficacy of steam distillate of *Moringa oleifera* Lam. **Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research**, v. 2, p. 34-37. jan. 2010.

KITAKOOP, P.; MAHIDOL, C.; RUCHIRAWAT, S. Alkaloids as important scaffolds in therapeutic drugs for the treatments of cancer, tuberculosis, and smoking cessation. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 14, n. 2, p. 239-252, 2014.

KHANBABAEE, K.; VAN REE, T. Tannins: classification and definition. **Natural product reports**, v. 18, n. 6, p. 641-649, 2001.

KORUTHU et al. Antibacterial evaluation, reducing power assay and phytochemical screening of *Moringa oleifera* leaf extracts: effect of solvent polarity. **International journal of Pharmaceutical Sciences And Research**, v. 2, n. 11, p. 2991-2995, 1 nov. 2011. [http://dx.doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.2\(11\).2991-95](http://dx.doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.2(11).2991-95).

LAR, P. M. et al. Antibacterial activity of *Moringa oleifera* seed extracts on some gram negative bacterial isolates. **African Journal Of Natural Sciences**, v. 14, p. 57- 62. dez. 2011.

LIMA, D. S. de et al. Estudo da atividade antibacteriana de dois monoterpenos timole carvacrol contra cepas de *Escherichia coli* produtoras de  $\beta$ -lactamases de amplo espectro. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 1 pág. 17-21, 2017.

LONG, T. E. Recent progress toward the clinical development of new anti- MRSA. **IDrugs**, v. 6, n. 4, p. 351-359, 2003.

MACEDO, L. C. et al. **Prospecção tecnológica da *Moringa oleifera* Lam.** In: II ENCONTRO NACIONAL DE MORINGA, 2010, Aracaju/ Se, p.1-3, 2010.

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. de. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Quím. Nova**, v. 36, n. 8, p. 1248-1255, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000800026>.

**ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP.2019.** Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/petroleo-derivado/solventes/metanol>>.

MIRANDA, J. A. L et al. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 17, n. 4, supl. 3, p. 1142-1149, 2015.

MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOURA, M. C. de. et al. Atividade antibacteriana de preparações de folhas de *Moringa oleifera* contendo inibidor de tripsina. **Arrudea**, v. 1, n. 1, p. 12-18, 2015. OLIVEIRA, V. C. de. et al. Atividade antimicrobiana de extratos desementes de moringa contra bactérias isoladas em fontes de Águas contaminadas. **Agrotrópica (Itabuna)**, v. 28, n. 2, p. 191-196, 31 ago. 2016. <http://dx.doi.org/10.21757/0103-3816.2016v28n2p191-196>.

OLUDURO, O. A. et al. Characterization and Antimicrobial Activity of 4-( $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-1 $\rightarrow$ 4-L-rhamnopyranosyloxy) - benzyl thiocarboxamide; a Novel Bioactive Compound from *Moringa oleifera* Seed Extract. **Folia Microbiologica**, v.55, n. 5, p. 422-426, set. 2010. <http://dx.doi.org/10.1007/s12223-010-0071-0>.

OTHMAN, A. S.; AHMED, N. A. Antibacterial Effect of the Ethanol Leaves Extract of *Moringa oleifera* and *Camellia sinensis* against Multi Drug Resistent Bacteria. **International Journal Of Pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 156-165, 15 jan. 2017. <http://dx.doi.org/10.3923/ijp.2017.156.165>.

PATEL, N. et al. Phytochemical analysis and antibacterial activity of moringa oleifera. **International Journal Of Medicine And Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 29-36. abr. 2014.

PAULA, D. G. et al. Estratégia de adesão à higienização das mãos por profissionais de saúde. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, Santa Cruz do Sul**, v. 7, n. 2, 2017.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. D. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v. 3, n. 4, p. 146-152, nov. 2012.

PESSOA, R. B. G.; COELHO, L. C. B. B. AVALIAÇÃO in vitro DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA LECTINA SOLÚVEL EM ÁGUA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera* (wsmol): ANÁLISE POR MICROSCOPIA CONFOCAL. **XXIII Conic VII Coniti IV Enic**, Recife, 2015.

PIYAMAWADEE, C.; AHT-ONG, D. The Effect of Different Extracting Conditions on the Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Lam. Leaves Extract for the Development of Antibacterial Meat Tray. **Materials Science Forum**, v. 990, p. 183- 187, mai. 2020. <http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/msf.990.183>.

PIZZI, A. Tannins: major sources, properties and applications. In: **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Elsevier, 2008. p. 179-199. PLAPER, A. et al. Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 306, n. 2, p. 530-536, 2003.

RAJ, A. J. et al. Antimicrobial Activity of *Moringa oleifera* (Lam.) Root Extract. **Journal Of Pharmacy Research**, v. 4, n. 5, p. 1426-1427, mai. 2011.

RAO, K. N.; VENKATACHALAM, S. R. Inhibition of dihydrofolate reductase and cell growth activity by the phenanthroindolizidine alkaloids pergularinine and tylophorinidine: the in vitro cytotoxicity of these plant alkaloids and their potential as antimicrobial and anticancer agents. **Toxicology in vitro**, v. 14, n. 1, p. 53-59, 2000.

RESENDE, F. A. **Estudo do potencial antimutagênico, mutagênico, estrogênico e antibacteriano de flavonoides**. 83 f. Tese (Doutorado) - em Biociências e Biotecnologia Aplicadas À Farmácia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

RIBEIRO, B. D. et al. Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*): critical micellar concentration, antioxidant and antimicrobial activities. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 436, p. 736-743, 2013.

RIBEIRO, S. M. R. et al. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience journal**, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.

RODRIGUES, F. A. R. **Estudo das Propriedades Citotóxica, Genotóxica e Antitumoral de um Benzil-Isotiocianato Isolado de *Moringa oleifera* (Moringaceae)**. 142 f. Dissertação (Mestrado) — em Farmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

RUTTARATTANAMONGKOL, K.; PETRASCH, A. Antimicrobial activities of *Moringa oleifera* seed and seed oil residue and oxidative stability of its cold pressed oil compared with extra virgin olive oil. **Songklanakarin Journal Of Science And Technology** 37, p. 587-594. set. 2015.

SANTOS, I. F. dos. **Determinação da atividade antibacteriana e citotoxicidade dos extratos de semente de moringa oleifera lam. Utilizados em tratamento de águas**. 2015. 28 f. Dissertação (Mestrado) - em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, 2015.

SANTOS, T. A. **Avaliação de diferentes métodos e solventes de extração sobre a composição fenólica e centesimal, atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos dos frutos da *Momordica charantia* L.** 2018. 83 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Departamento de Farmácia de Lagarto, Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2018.

SARKER, S. D.; NAHAR, L. Progress in the chemistry of naturally occurring coumarins. In: **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products** 106, Springer, Cham, 2017. p. 241-304.

SINGH, K.; TAFIDA, G. M. Antibacterial activity of moringa oleifera (lam) leaves extracts against some selected bacteria. **International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 9, p. 52-54, jan. 2014.

SOUZA, E. B. R. de. Análise exploratória do efeito do solvente na análise de metabólitos secundários das folhas de *Annona muricata* L. por métodos quimiométricos. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado) — em Química dos Recursos Naturais, Universidade Estadual de Londrina.

SOUZA, S. M. de. **Atividade antibacteriana de cumarinas naturais e Derivados**. 94 f. Dissertação (Mestrado) — em Biotecnologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TSUCHIYA, H.; IINUMA, M. Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. **Phytomedicine**, v. 7, n. 2, p. 161-165, 2000.

VASCONCELOS, M. C. **Moringa oleifera Lam.: Aspectos morfométricos, fisiológicos e cultivo em gradiente de espaçamento**. 2013. 105f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe – São Cristóvão – Sergipe, 2013.

VIERA, G. H. F. et al. Antibacterial effect (in vitro) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against Gram positive and Gram negative bacteria. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 3, p. 129-132, jun. 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46652010000300003>.

WANG, Q.; WANG, H.; XIE, M. Antibacterial mechanism of soybean isoflavone on *Staphylococcus aureus*. **Archives of microbiology**, v. 192, n. 11, p. 893-898, 2010.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZAFFER, M. et al. Antibacterial activity of bark extracts of *Moringa oleifera* Lam. against some selected bacteria. **Pakistan Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 6, p. 1857-1862, nov. 2014.

ZENI, A. L. B. et al. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, ago. 2017.

# CAPÍTULO 17

## ANÁLISE TOXICOLÓGICA DE EXTRATOS AQUOSOS DE *ASPIDOSPERMA PYRIFOLIUM* (APOCYNACEAE) EM *ALLIUM CEPA* E *MUS MUSCULUS*

DOI: 10.47402/ed.ep.c202172916585

**Edigleyce de Lima Costa Menezes**, Mestre em Produção Animal, Técnica de Nível Superior, UERN

**Eliezer Fernandes da Silva Filho**, Mestre em Produção Animal, Professor de biologia Ceamo

**José Carlos da Silveira Pereira**, Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular, Professor, FACENE/RN

**Naama Jessica de Assis Melo**, Doutora em Fitotecnia, Assistente de Laboratório, UFERSA

**Maria Vitória Dantas Sampaio**, Acadêmica em Farmácia, FACENE/RN

**Marcela Vitória Dantas Sampaio**, Acadêmica em Farmácia, FACENE/RN

**Francisca Vitória Amaral Nóbrega**, Especialista em Gestão Ambiental- UNIFIP

**Marcos Antonio Nobrega de Sousa**, Doutor em genética, Professor Associado, UFCG

### RESUMO

Este trabalho objetivou estudar o efeito tóxico, citotóxico e mutagênico de extratos aquosos de folhas frescas e secas de *Aspidosperma pyrifolium* no sistema teste *Allium cepa* e em camundongos *Mus musculus*. Foi preparado o extrato aquoso de folhas frescas (EAFF) e de folhas secas (EAFS) em diferentes concentrações, de acordo com o tipo de experimento. Foi realizada a análise do crescimento de raízes, inibição relativa e índice mitótico com o teste *Allium cepa*, nas concentrações de (0, 5, 50 e 300mg/L) e em camundongos, DL<sub>50</sub>(0, 5, 50, 300, 600, 900 e 1200 mg/Kg). Além do teste de micronúcleo e contagem de células binucleadas (0, 5, 50 e 500 mg/L). Os bioensaios com o *Allium cepa* revelaram que apenas o extrato aquoso de folhas frescas foi tóxico na concentração de 300 mg/L e subletal na concentração de 5 mg/L. A dose letal mediana encontrada com o extrato aquoso de folhas frescas foi 750,63 mg/Kg. Os animais avaliados apresentaram alterações comportamentais no sistema nervoso e no peso médio total. Entretanto, as concentrações testadas não foram mutagênicas e nem citotóxicas. Todavia, são apresentados dados de toxicidade, citotoxicidade e mutagenicidade ainda não investigados para esta espécie.

**PALAVRAS-CHAVE:** Camundongos. Célula Binucleada. *Allium cepa*. Índice mitótico. Micronúcleo. Pereiro

### INTRODUÇÃO

As plantas possuem uma vasta gama de compostos orgânicos naturais, produtos do metabolismo primário e secundário, que podem exercer efeitos benéficos ou maléficos sobre o organismo. As reações adversas que as plantas poderão desencadear podem ser decorrentes de

seus próprios componentes ou também pela presença de contaminantes (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Uma planta que é utilizada na medicina popular, mas é apontada como tóxica para animais de produção é a espécie *Aspidosperma pyriformis*, conhecida como pereiro. Uma planta tóxica de interesse pecuário é aquela que, quando ingerida pelos animais, em condições naturais, causa danos à saúde ou mesmo morte (ROSSETTI; CORSY, 2009).

Os principais efeitos tóxicos evidenciados por essa planta são danos ao sistema reprodutivo e nervoso dos animais (SILVA et al, 2006; ASSIS et al., 2009; RIET-CORREA et al., 2011; NETO et al., 2013, MEDEIROS et al., 2004; LIMA e SOTO-BLANCO, 2010, FERREIRA, 2014).

As intoxicações de animais de produção por plantas são importantes causas de perdas econômicas nas diferentes regiões do Brasil (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001). Embora a pesquisa sobre plantas tóxicas tem-se limitado, prioritariamente, à identificação das espécies e à determinação dos sinais clínicos da patologia e alguns aspectos da epidemiologia das intoxicações. Poucos esforços têm sido realizados para determinar os princípios ativos das plantas e seus mecanismos patogênicos (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001).

Desse modo, o uso de ensaios biológicos, como o teste *Allium cepa* L., para a avaliação da bioatividade de extratos de plantas tem sido frequentemente incorporado na identificação e monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas (NOLDIN et al, 2003). E muitos testes também são utilizados para avaliar a toxicidade sistêmica aguda dos animais, e também para classificar e apropriadamente rotular substâncias de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade (LOPES, 2006).

Sistemas vegetais, como *A. cepa*, têm sido bem aceitos por pesquisadores para estudo dos efeitos de extratos vegetais (FACHINETTO et al., 2007), por meio de parâmetros macroscópicos como alteração de cor, formato, tamanho da raiz e deformidade, visando a avaliação do potencial tóxico de muitos compostos (LONGHIN, 2008). Jardim (2004) e Vicentini et al. (2001) ressaltam que a avaliação por crescimento das raízes tem se mostrado útil nessa detecção, pois as raízes ficam em contato direto com a substância testada, permitindo a avaliação de diferentes concentrações.

Outro parâmetro, o índice mitótico constitui importante ferramenta para a avaliação da toxicidade celular de diversas substâncias, onde a citotoxicidade de determinado agente químico pode ser determinada pelo aumento ou pela diminuição do índice. (HOSHINA, 2002).

Outra metodologia amplamente empregada é a avaliação de toxicidade aguda utilizada para verificar e classificar substâncias quanto à sua capacidade de provocar danos agudos aos organismos vivos (SILVEIRA et al., 2008; CUNHA et al., 2009).

Dentre os métodos para investigação de toxicidade genética *in vivo*, o teste de micronúcleo em células da medula óssea de camundongos tem sido amplamente empregado e aceito pelas agências reguladoras e comunidade científica (MATEUCA et al., 2006).

As características mais importantes da análise pelo teste de micronúcleos são a rapidez e a facilidade pela qual a atividade genética pode ser demonstrada *in vivo* e o conhecimento de que, esses eventos, são muito significativos em termos de riscos para os animais e seres humanos (SALAMONE et al., 1980; MAVOURNIN et al., 1990). Já as células binucleadas são indicativas de citotoxicidade decorrentes de uma falha no processo de citocinese (HOLLAND et al. 2008). O aumento na sua incidência pode prever uma falha no mecanismo de diferenciação celular ou ser secundária a agentes genotóxicos. Os processos subjacentes ao aparecimento dessas anormalidades podem ser conhecidos através de várias publicações (CELIK et al., 2003; BASU et al., 2002; CARVALHO et al., 2002).

Este trabalho objetivou avaliar o efeito de concentrações do extrato aquoso de folhas secas e folhas frescas da espécie *Aspidosperma pyrifolium* sobre o sistema teste *Allium cepa* e a toxicidade sistêmica e genética *in vivo* em camundongos da espécie *Mus musculus*.

## **METODOLOGIA**

### **PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS**

As folhas de *Aspidosperma pyrifolium* foram coletadas na fazenda Vista Bela, município de Angicos, RN, durante a estação seca de 2014. Exsiccatas foram depositadas no Herbário da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), sob número de identificação 14525.

Para o extrato aquoso das folhas frescas (EAFF), 100g de folhas foram lavadas e homogeneizadas em 1000 mL de água destilada por 10 minutos, seguido de filtração em tecido organza e centrifugação (30 minutos; 2000 rpm). Enquanto que, para o extrato aquoso de folhas

secas (EAFS). O material vegetal seco foi obtido conforme Torres (2006) com modificações, onde as folhas foram selecionadas, desidratadas em bancada ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e trituradas em liquidificador até a formação de pó fino. O extrato final foi obtido pela adição de água destilada, descanso por 24 horas, filtração em tecido organza e centrifugação (2000 rpm, cinco minutos).

#### TESTE *Allium cepa* L.

A avaliação de toxicidade das raízes dos bulbos de *Allium cepa* a partir do extrato seco (EAFS) e do extrato fresco (EAFF) das folhas foi realizada conforme Fiskesjo (1988), com algumas modificações. Os bulbos foram obtidos comercialmente em supermercados na cidade de Mossoró-RN e armazenadas em local livre de umidade e luz, lavados para retirada de impurezas em água corrente por 1 hora, seguido de remoção das raízes velhas. Foram colocados em recipientes plásticos com capacidade para 50 ml de extrato. Os bulbos foram distribuídos em grupos com diferentes concentrações do extrato (5 mg/L, 50 mg/L e 300 mg/L), e controle negativo (água destilada), com cinco réplicas por tratamento.

Ao final do teste (72h) foi realizada a medição do comprimento das três maiores raízes de cada bulbo da cebola utilizando-se de um paquímetro digital. O cálculo da Inibição Relativa (IR) do crescimento foi realizado através da equação  $IR = 100 - (ICR * 100)$ , onde ICR é o Índice de Crescimento Relativo, obtido pela equação  $ICR = CRA / CRC$ , onde, CRA é o Comprimento da Radícula na Amostra e CRC é o Comprimento da Radícula no Controle Negativo. (YOUNG et al., 2012).

A citotoxicidade foi determinada através da avaliação do índice mitótico de células meristemáticas das raízes obtidas dos bulbos de cebola expostas às diferentes concentrações do extrato de folhas secas (EAS) e frescas (EAF). As radículas dos bulbos foram coletadas e fixadas em Carnoy (3:1, álcool etílico : ácido acético) por 24 horas, e em seguida foi realizado o esmagamento, coloração e montagem das lâminas de microscopia (GUERRA; SOUZA, 2002).

A análise foi realizada por teste cego de 1000 células por bulbo. O índice mitótico (IM) foi avaliado conforme KUMARI, MUKHERJEE e CHANDRASEKARAN (2009), e o valor limite de citotoxicidade (VLC) conforme MIGID, AZAD e IBRAHIM (2007).

#### ANIMAIS UTILIZADOS

Para todos os ensaios com animais foi utilizado apenas o extrato aquoso obtido de folhas frescas. Foram utilizados camundongos da linhagem Swiss (*Mus musculus*) com peso entre 25-

50g, subdivididos entre machos e fêmeas. Os animais foram obtidos do biotério da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e mantidos no biotério do laboratório de Farmacognosia e Farmacologia da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) em caixas de polipropileno, com temperatura controlada ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e ciclo claro/escuro natural, além de alimentação com ração padrão e água mineral disponível à vontade no período de adaptação (94 horas) e de experimentação.

Os experimentos foram realizados após aprovação pelo Comitê de Ética no uso de animais da Universidade Federal Rural do Semi Árido sob parecer nº 27/2014. Os animais foram tratados conforme os princípios definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e em conformidade aos preceitos da legislação brasileira (Lei Arouca - Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008).

#### ESTABELECIMENTO DA DL<sub>50</sub>

A Dose Letal Mediana (DL<sub>50</sub>) foi obtida a partir do extrato aquoso das folhas frescas. Nesse sentido, os camundongos receberam doses únicas de 5, 50, 300, 600, 900 e 1200 mg/Kg (OECD, 2001) através da administração intraperitoneal de uma única dose, além de um controle negativo (solução salina 0,9% - m/v no volume de 10 ml/Kg de peso corporal) (LÚCIO et al., 2000).

Os animais foram observados por períodos de 24 e 48 h (ABDEL-BARRY, 2000). Os parâmetros de toxicidade aguda foram monitorados através do registro do número de mortes de animais por grupo.

#### SCREENING HIPOCRÁTICO

A avaliação ou *screening* hipocrático fornece uma estimativa geral da natureza toxicológica de uma substância desconhecida sobre: estado consciente e disposição (I), atividade e coordenação do sistema motor (II), reflexos (III), atividades sobre o sistema nervoso central (IV) e sistema nervoso autônomo (V) (MALONE; ROBICHAUD, 1983). Nesse sentido, as avaliações do *screening* hipocrático foram feitas 0, 24, 48 horas após administração, e os animais sobreviventes da determinação da DL<sub>50</sub> foram pesados e observados a cada 24 horas até o 14º dia após os tratamentos, para verificação de possíveis efeitos tardios da substância. Os efeitos médios foram obtidos a partir dos dados anotados individualmente (ARAÚJO et al., 1994).

## TESTE DE MICRONÚCLEO E ANORMALIDADE NUCLEAR

O teste de micronúcleos (MN) foi realizado conforme Mavournin et al. (1990), e com algumas modificações propostas por Da Silva et al. (2009). A partir dos resultados de toxicidade obtidos do teste *Allium cepa*, buscou-se determinar a mutagenicidade e citotoxicidade em células animais apenas do extrato aquoso de folhas frescas.

Para análise de mutagenicidade, o desenho experimental foi constituído de quatro grupos (controle negativo “solução salina a 0,9% por 10 ml/Kg”, e três doses do extrato: 5, 50 e 600 mg/kg com seis animais cada um, num total de 24 animais. Após 24 horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical para a coleta do material da medula óssea do fêmur, segundo BONA (2011) com modificações. Foram preparados esfregaços de material da medula óssea em lâminas de microscopia, que foram fixadas com metanol e corados com Giemsa, conforme técnica de Zambrano et al. (1982).

Como anormalidade nuclear pertinente à citotoxicidade considerou-se a presença de células binucleadas (BN) de acordo com Holland et al. (2008). A incidência de MN e BN foi observada em 2000 EPC (eritrócitos policromáticos) (1000 em cada lâmina preparada por animal). A análise do material foi realizada em fotomicroscópio óptico com aumento de 1000X com câmera digital acoplada de 12mp. As lâminas foram codificadas para análise cega.

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

A DL<sub>50</sub> foi calculada por regressão linear. A interação entre o peso de machos e fêmeas foi realizada por análise fatorial. Já a análise estatística de crescimento de raízes, índice mitótico, pesos médios, quantidade de micronúcleos e células binucleadas foi realizada por comparação ao controle negativo através do método de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn's ( $p < 0,05$ ), quando os dados estavam fora da normalidade segundo o teste de Shapiro-Wilk (ZAR, 1999), ou quando não, por ANOVA não paramétrica, com o teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software R, versão 3.2.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ANÁLISE DA TOXICIDADE COM *Allium cepa* L.

A análise do crescimento de raízes tratada com o extrato aquoso de folhas secas (EAS) indicou que não houve alteração significativa no comprimento das raízes em relação ao controle, o que demonstra não haver toxicidade nas condições experimentais. Já o extrato

aquoso de folhas frescas (EAF) provocou uma redução no crescimento de raízes, estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) somente na concentração de 300 mg/L. O potencial tóxico também foi comprovado pela inibição relativa (100% na mesma concentração de 300 mg/L (Tabela 1).

Quando comparados os valores do extrato aquoso seco com os do fresco não foram detectadas diferenças estatísticas significativas.

**Tabela 1.** Crescimento médio (mm) e inibição relativa de raízes de bulbo de *Allium cepa* L. expostas ao extrato aquoso das folhas secas (EAS) e frescas (EAF) de *Aspidosperma pyrifolium*.

Concentração	Crescimento médio (mm) $\pm$ SD		Inibição relativa (%)	
	EAS	EAF	EAS	EAF
Controle Negativo	15,5 $\pm$ 9,9	10,9 $\pm$ 16,0	-	-
5 mg/L	12,7 $\pm$ 19 <sup>ns</sup>	5,8 $\pm$ 6,3 <sup>ns</sup>	18	47
50 mg/L	16,1 $\pm$ 14 <sup>ns</sup>	5,3 $\pm$ 11 <sup>ns</sup>	-4	52
300 mg/L	10,4 $\pm$ 16 <sup>ns</sup>	0,0 $\pm$ 0,0*	33	100

Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Método de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn 's. SD= desvio padrão, ns ( $p > 0,05$ ) = valores não significativos, \*= valores significativos ( $p < 0,05$ ). **Fonte:** o autor.

Os efeitos tóxicos só se manifestam em organismos se o agente tóxico alcançar locais específicos do organismo, em concentrações e tempo suficientes para produzir algum tipo de efeito (MACEDO et al., 2014). Conseqüentemente, resultados positivos no teste de *Allium cepa* devem ser considerados como um alerta e também um indicativo de que o extrato testado pode ser um risco à saúde dos organismos expostos (FISKESJÖ, 1985).

Os dados obtidos neste trabalho sobre toxicidade de crescimento de raízes são importantes, devido a espécie *A. pyrifolium* servir como opção alimentar para os animais de produção da Caatinga em períodos de seca. Alguns relatos de produtores já evidenciaram a toxicidade desta planta quando consumida por bovinos, caprinos e ovinos, tendo efeitos no sistema reprodutivo e nervoso, principalmente quando eles consomem a planta verde (MEDEIROS et al., 2004; SILVA et al., 2006; ASSIS et al., 2009; NETO et al., 2013; RIET-CORREA et al., 2011; FERREIRA, 2014), o que corrobora com os resultados obtidos de toxicidade do extrato aquoso de folhas verdes utilizando como sistema teste o *A. cepa*.

Essa toxicidade pode estar associada à presença de constituintes químicos ou princípios ativos tóxicos encontrados nos vegetais. Existem vários metabólitos causadores de intoxicação, entre eles: toxialbuminas (ricina e curcina), provenientes do metabolismo primário das plantas; alcalóides, terpenos e compostos fenólicos diversos, do metabolismo secundário. Deve-se destacar, ainda, que a intoxicação vai depender da quantidade de substância tóxica absorvida,

da natureza dessa substância e da via de introdução (HARAGUCHI, 2003; MELLO *et al.*, 2010).

Para a espécie *A. pyrifolium*, Santos (2010) revelou que essa planta é detentora de alcalóides e taninos. Nóbrega (2008), relata a presença de triterpenos, esteróides, iridóides, saponinas, açúcares redutores e ausência de glicosídeos cardíacos para *Aspidosperma pyrifolium* Mart. Desse modo, a toxicidade do extrato aquoso de folhas frescas pode estar associada à presença desses compostos orgânicos.

Segundo Rice (1984), alguns compostos podem interferir no desenvolvimento de outras plantas quando em altas concentrações, mas, em outras menores, podem não estimular o mesmo processo. Isto pode ser o que ocorreu com o extrato de folhas secas. Visto que compostos orgânicos são compostos voláteis (FERREIRA; AQUILA, 2000), e o processo de secagem das folhas pode desencadear a diminuição desses compostos na planta.

#### ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE COM *Allium cepa* L.

Os resultados dos ensaios em função do índice mitótico (IM), estágios da mitose e do valor limite de citotoxicidade das células de *Allium cepa* estão apresentados na Tabela 2. Observa-se que nenhuma das concentrações testadas do extrato aquoso de folhas secas (EAS) foram capazes de causar citotoxicidade nas células de *Allium cepa* e nem nos estágios da mitose. Contudo, houve um aumento significativo da divisão celular na concentração de 50 mg/L, principalmente na fase de prófase, o que pode ser prejudicial para células, podendo ser um indicativo de que o extrato aquoso de folhas secas desta planta pode causar a formação de tecidos tumorais. Resultado semelhante ocorreu no extrato de folhas frescas (EAF), mas, o índice mitótico da concentração de 300 mg/L não pôde ser determinado, pois não houve crescimento de raízes e, portanto, não foi possível a confecção de lâminas para a análise nessa concentração.

Também não houve também diferença estatística significativa do índice mitótico e nem das fases da mitose quando comparado o extrato aquoso de folhas secas e o extrato aquoso de folhas frescas da espécie *A. pyrifolium* utilizando método de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn's ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2.** Total de células, células em mitose observadas ao microscópio, valores do índice mitótico IM, fases da mitose e valor limite de citotoxicidade VLC (%) de células de raiz de *Allium cepa* após a exposição ao extrato aquoso de folhas secas (EAS) e frescas (EAF) de *Aspidosperma pyrifolium*.

Tratamento	IM	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	VLC	
EAS	Controle negativo	3,36±1,50	23,6±14,53	6,2±4,08	3,8±3,42	0±0	100
	5 mg/L	6,6±0,14 <sup>ns</sup>	46,5±13,43 <sup>ns</sup>	14,5±10,6 <sup>ns</sup>	4,5±2,12 <sup>ns</sup>	0,5±0,7 <sup>ns</sup>	196
	50 mg/L	20,03±17,16*	183,6±154,8*	8,0±7,0 <sup>ns</sup>	6±7,2 <sup>ns</sup>	2,6±3,05 <sup>ns</sup>	596
	300 mg/L	8,7±2,26 <sup>ns</sup>	77,5±16,26 <sup>ns</sup>	7±7,07 <sup>ns</sup>	2±0,0 <sup>ns</sup>	0,5±0,70 <sup>ns</sup>	259
EAF	Controle negativo	8,96±3,86	67,3±39,0	12,3±5,13	5,3±1,52	4,6±4,72	100
	5 mg/L	3,52±1,74 <sup>ns</sup>	20±18,34 <sup>ns</sup>	9,75±8,26 <sup>ns</sup>	4,7±4,34 <sup>ns</sup>	0,75±0,9 <sup>ns</sup>	39
	50 mg/L	14,9±11,31 <sup>ns</sup>	133,5±116,67 <sup>ns</sup>	12±1,41 <sup>ns</sup>	2,5±0,7 <sup>ns</sup>	1±1,41 <sup>ns</sup>	166
	300 mg/L	ND	ND	ND	ND	ND	-

Valores expressos em média ± desvio padrão. Método de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn 's. ND= Não determinado, ns (p > 0,05) = valores não significativos, \*= valores significativos comparados ao controle (p < 0,05). **Fonte:** o autor.

É possível que a alta concentração de alguns compostos químicos tenha um efeito (inibitório ou estimulatório) no ciclo celular, como tem sido mostrado para extratos de *Alpinia mutans* e *Pogostemon heyneanus* nas células de raízes de *Allium cepa* (DIAS; TAKAHASHI, 1994), glaucolide B extraído de *Vernonia eremphila* Mart. em linfócitos humanos (BURIM et al., 1999; CAMPAROTO et al., 2002), e infusões de *Achyrocline satureioides* DC nas células de raízes de *Allium cepa* (FACHINETTO et al., 2007).

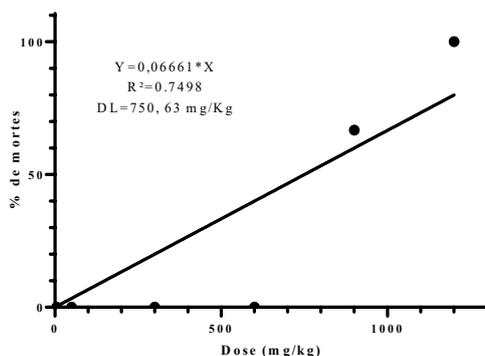
Para os valores de limite de citotoxicidade, valores abaixo de 50% indicam efeito subletal, e abaixo de 22%, letal (MIGID et al., 2007). Desta forma, é possível deduzir que o extrato aquoso de folhas secas em nenhuma das concentrações teve efeito citotóxico nas células, pois pelo contrário, houve aumento da divisão celular.

Todavia, no extrato aquoso de folhas frescas é possível deduzir que existe um efeito tóxico subletal no organismo na concentração de 5 mg/L (Tabela 2). O que corrobora com o fato da espécie *A. pyrifolium* possuir taninos e flavonoides em sua composição, e esses compostos e sua atividade enzimática estarem relacionados em algumas plantas a inibição da divisão celular de *Allium cepa* (TEIXEIRA et al., 2003; SHI et al., 2001; DELMULLE et al., 2006; BORGES-ARGÁEZ et al., 2007; KNOLL et al., 2006; FACHINETTO et al., 2007).

## DETERMINAÇÃO DA DL<sub>50</sub>

Os resultados do ensaio de toxicidade aguda revelaram uma dose letal mediana (DL<sub>50</sub>) de 750,63 mg/Kg para o extrato aquoso de folhas frescas de *Aspidosperma pyriforme* (Fig. 1). Sendo letal, nas concentrações testadas, a partir da concentração de 900 mg/Kg.

**Fig. 1.** Dose letal mediana do extrato aquoso de folhas frescas de *Aspidosperma pyriforme* administrados intraperitonealmente em camundongos. Regressão linear da dose-resposta:  $R^2 = 0,7498$  e  $Y = 0,06661 * X$ .



**Fonte:** o autor.

Nóbrega (2008) avaliou a toxicidade aguda do extrato metanólico da casca de *Aspidosperma pyriforme* também em camundongos e encontrou valores diferentes dos deste trabalho, a maior dose que não apresentava letalidade foi 5 mg/Kg e a menor dose que apresentou 100% de letalidade foi 15,62 mg/Kg.

Várias substâncias químicas podem ser letais a um organismo, compostos de metabolismo secundário, como compostos fenólicos e flavonoides, estão associados a efeitos tóxicos nos organismos (AGUIAR, 2004; AGUIAR et al, 2007; HUTABARAT et al., 2000). Grandes quantidades de taninos podem desempenhar atividades prejudiciais e causar danos aos animais (MONTEIRO et al., 2005).

Nóbrega (2008) relata a presença de triterpenos, esteróides, iridóides, saponinas, açúcares redutores e ausência de glicosídeos cardíacos para *A. pyriforme* Mart. Métodos fitoquímicos clássicos realizados por Santos (2010) em extratos botânicos para detecção de constituintes químicos revelam que o pereiro é detentor de alcalóides e taninos. Desse modo, a toxicidade do extrato aquoso de folhas frescas deve estar associada à presença desses compostos orgânicos.

## SCREENING HIPOCRÁTICO

Na análise do “Screening Hipocrático” para as concentrações de 5 mg/Kg, 50 mg/Kg, 300 mg/Kg e 600 mg/Kg nas primeiras 48 h, de forma geral, foram observadas um aumento do

estado de consciência e disposição (atividade geral); um aumento da atividade e coordenação do sistema motor e tônus muscular (resposta ao toque); um aumento do sistema nervoso central (tremores), e do sistema nervoso autônomo (respiração). Tais manifestações foram reversíveis desaparecendo após as primeiras 48 h.

Entretanto, na concentração de 900 mg/Kg, nas primeiras 48 h, houve uma diminuição do estado de consciência e disposição (atividade geral); uma diminuição da atividade e coordenação do sistema motor e tônus muscular (resposta ao toque; endireitamento e tônus do corpo); um aumento do sistema nervoso central (tremores; convulsões e straub), e de diminuição do sistema nervoso autônomo (respiração). 66,7% camundongos (de seis) já morreram nos primeiros 30 minutos. As manifestações dos animais sobreviventes desapareceram após 48 horas.

Na concentração de 1200 mg/kg todos os animais morreram nos primeiros 30 minutos, apresentando sinais de grande diminuição do estado de consciência e disposição (atividade geral), diminuição da atividade e coordenação do sistema motor e tônus muscular (resposta ao toque; endireitamento, força para agarrar e tônus do corpo); um grande aumento do sistema nervoso central (tremores; convulsões e straub), e de diminuição do sistema nervoso autônomo (respiração).

Esses dados podem ser comparados com o *screening* realizado por Nóbrega (2008), que aplicou em camundongos diferentes concentrações do extrato metanólico da casca de *A. pyrifolium*, de modo que os animais apresentaram após 30 minutos da administração, reações com características estimulantes tais como: agitação, movimentos circulares, reações de fuga, tremores grosseiros, movimentos de vibrissas e taquicardia. Em seguida os animais passaram a apresentar reações com características depressoras como: ambulação diminuída, flacidez muscular e analgesia (diminuição dos reflexos), outros efeitos observados foram: contorções abdominais, tônus da musculatura abdominal, espasmos e irritação na conjuntiva.

Observa-se que a influência dessa planta sobre o sistema nervoso dos animais, está de acordo com o conhecimento popular dos produtores sobre sua toxicidade quando consumida por bovinos, caprinos e ovinos, com efeitos no sistema reprodutivo e nervoso, principalmente quando os animais consomem a planta verde (MEDEIROS et al., 2004; SILVA et al., 2006; ASSIS et al., 2009; RIET-CORREA et al., 2011; RIET-CORREA; MEDEIROS, 2011; NETO et al., 2013; FERREIRA, 2014).

## ANÁLISE DO PESO CORPORAL

Foi observado que o peso, tanto dos machos quanto das fêmeas, não apresentou variação significativa durante o experimento. Mas analisando o peso médio total dos animais foi observado um aumento significativo do peso entre a concentração de 5 mg/Kg e 600 mg/Kg e de 5 mg/Kg e 900 mg/Kg. Apesar desta última concentração já se encontrar no intervalo de letalidade do extrato, ela não foi capaz de reduzir o peso dos animais (Tabela 3). As alterações no peso médio têm sido usadas como indicador de efeitos adversos para drogas e compostos (HILALY et al., 2004).

**Tabela 3.** Peso médio (g)  $\pm$  desvio padrão das fêmeas, dos machos e do total de animais (machos + fêmeas) que receberam o extrato aquoso de folhas frescas de *Aspidosperma pyrifolium*.

Tratamento	Peso médio					
	Fêmeas	npf	Machos	npm	Total	npt
Controle negativo	35,58 $\pm$ 0,98	3	42,89 $\pm$ 0,88	3	39,24 $\pm$ 1,35	6
5 mg/Kg	33,74 $\pm$ 4,08 <sup>ns</sup>	3	34,49 $\pm$ 3,31 <sup>ns</sup>	3	35,84 $\pm$ 1,50 <sup>a</sup>	6
50 mg/Kg	36,77 $\pm$ 1,27 <sup>ns</sup>	3	42,14 $\pm$ 4,35 <sup>ns</sup>	3	40,22 $\pm$ 1,85 <sup>ns</sup>	6
300 mg/Kg	36,32 $\pm$ 2,57 <sup>ns</sup>	3	40,38 $\pm$ 1,24 <sup>ns</sup>	3	38,62 $\pm$ 2,00 <sup>ns</sup>	6
600 mg/Kg	38,10 $\pm$ 4,27 <sup>ns</sup>	3	44,77 $\pm$ 4,90 <sup>ns</sup>	3	41,44 $\pm$ 1,78 <sup>b</sup>	6
900 mg/Kg	ND	0	46,78 $\pm$ 3,94 <sup>ns</sup>	2	46,78 $\pm$ 1,76 <sup>ns</sup>	2
1200 mg/Kg	ND	0	ND	0	ND	0

Método de Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey. ND = Não determinado, ns ( $p > 0,05$ ) valores não significativos, npf = número de fêmeas pesadas, npm = número de machos pesados e npt = número total incluindo machos e fêmeas pesados. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas entre tratamentos. **Fonte:** o autor.

Também foi observado por análise fatorial que não houve interação em nenhuma das concentrações testadas entre fêmeas e machos, mostrando que o peso de um sexo não influenciou no peso do outro sexo. Um estudo realizado com o pó das cascas do tronco de *Aspidosperma excelsum* na dose de 5000 mg/kg também não alterou a evolução ponderal do peso de ambos os sexos em relação aos respectivos grupos controle em camundongos (NÓBREGA, 2008).

## ANÁLISE CITOTÓXICA E MUTAGÊNICA

Na análise das médias das frequências de micronúcleos e células binucleadas foi observado que as concentrações testadas não apresentaram potencial mutagênico, nem citotóxico, quando comparadas ao controle (Tabela 4).

**Tabela 4.** Micronúcleos e células binucleadas (média  $\pm$  desvio padrão) em células de medula óssea de camundongos, após 24 horas da administração intraperitoneal do extrato aquoso de folhas frescas de *Aspidosperma pyrifolium*.

Concentração	Total de células	MN $\pm$ SD	BN $\pm$ SD
Controle negativo	6000	90 $\pm$ 6,07	49,5 $\pm$ 37,33
5 mg/Kg	6000	120 $\pm$ 4,63 <sup>ns</sup>	43,25 $\pm$ 38,29 <sup>ns</sup>
50 mg/Kg	6000	93 $\pm$ 9,29 <sup>ns</sup>	46,08 $\pm$ 48,53 <sup>ns</sup>
500 mg/Kg	6000	82 $\pm$ 3,33 <sup>ns</sup>	58,41 $\pm$ 53,77 <sup>ns</sup>

Método de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn 's. MN – micronúcleos, SD – desvio padrão, BN – binucleadas \* ( $p < 0,05$ ) diferença significativa entre as concentrações e o controle. ns ( $p > 0,05$ ) valores não significativos. **Fonte:** o autor.

Desse modo, em virtude da importância que a espécie *Aspidosperma pyrifolium* planta tem para a pecuária nordestina, esses dados servem como alerta para os produtores quanto ao consumo desta planta pelos animais de produção. Novos estudos devem ser realizados visando obter mais dados de toxicidade dessa planta para assegurar o uso em saúde humana e animal.

## CONCLUSÃO

O extrato aquoso de folhas secas de *Aspidosperma pyrifolium* não apresentou efeito tóxico e nem citotóxico nas células de *Allium cepa* nas concentrações testadas. Já o extrato aquoso de folhas frescas apresentou efeito tóxico na concentração de 300 mg/L, e efeito tóxico subletal na concentração de 5 mg/L, apesar de não apresentar citotoxicidade. Não houve diferença estatística significativa quando comparado os dois extratos quanto ao crescimento médio de raízes, índice mitótico e fase da mitose.

O extrato aquoso de folhas frescas mostrou-se letal nas fêmeas e machos a partir da concentração de 900 mg/Kg, com dose letal mediana de 750,63 mg/Kg. Os animais avaliados apresentaram alterações comportamentais, principalmente nas primeiras 48 horas, de modo que a planta mostrou influência no sistema nervoso dos animais. Já as alterações de peso médio para os sexos não foram significativas.

As concentrações testadas não mostraram potencial mutagênico e citotóxico, quando na análise das frequências de micronúcleo e células binucleadas por concentração em células de medula óssea de camundongos. Novos estudos devem ser realizados visando obter mais dados de toxicidade dessa planta para assegurar o uso em saúde humana e animal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-BARRY, J.A.; AL-HAKIEM, M.H.H. Acute intraperitoneal and oral toxicity of the leaf glycosidic extract of *Trigonella foenum-graecum* in mice. **Journals Ethnopharmacology**, v.70, p. 65-8. 2000.

AGUIAR, C. L. **Transformações física e bioquímica de isoflavonóides conjugados de soja (*Glycine max* L.) e o efeito na atividade biológica *in vitro***. 2004. 285 f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas. 2004.

AGUIAR, C. L., et al. Analysis of isoflavonoids from Leguminous plant extracts by RPHPLC/DAD and electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 58, p.116-24, 2007

ARAÚJO, L.C.L. et al. Avaliação toxicológica aguda e screening hipocrático da *Anchietae salutaris* St. Hill.- *Violaceae*. **Lecta-USF**, v.12, n.1, p. 7-21, 1994.

ASSIS, T. S. et al. Intoxicações por plantas em ruminantes e equídeos no Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 29, n. 11, p. 919-924, 2009.

BARBOSA, D.B. **Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidantes e análise preliminar da mutagenicidade do extrato aquoso das folhas de *Anacardium humile* St. Hill (*Anacardiaceae*)**. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2008.

BASU, A. et al. Enhanced frequency of micronuclei in individuals exposed to arsenic through drinking water in West Bengal, India, **Mutation Research**, v.516, p.29–40, 2002.

BORGES-ARGÁEZ, R. et al. Cytotoxic and antiprotozoal activity of flavonoids from *Lonchocarpus* spp. **Phytomedicine**, Stuttgart, Estados Unidos, v. 14, n. 7, p. 530-533, 2007.

BOTHAM, P. A. Acute systemic toxicity. **ILAR JOURNAL**, v. 43, Suppl:S, p. 277-281, 2003.

BURIM, R.V. et al. Genotoxic action of the sesquiterpene lactone glaucolide B on mammalian cells *in vitro* and *in vivo*. **Genetics and Molecular Biology** v. 22, p. 401-406, 1999.

CAMPAROTO, M. L. et al. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, p. 85-89, 2002.

CARVALHO, M. B. et al. Relationship between the outcome and the frequency of micronuclei in cells of patients with oral and oropharyngeal carcinoma, **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 48, p. 317–322, 2002.

CELIK, A. et al. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. **Mutagenesis** v.18, p. 417-421, 2003.

CUNHA, L. C., et al. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.2A, p.403-11, 2009.

DA SILVA, L.B., BORTOLI, M. G., AZEVEDO, A, M. B . Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: Micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. **Mutation Research**, v. 675, 2009.

DELMULLE, L. et al. Anti-proliferative properties of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus* L.) in human prostate cancer cell lines. **Phytomedicine**, Stuttgart, Estados Unidos, v. 13, n. 9-10, p. 732-734, 2006.

DIAS, F. L.; TAKAHASHI, C. S. Cytogenetic evaluation of the effect of aqueous extracts of the medicinal plants *Alpinia nutans* Rose (Zingiberaceae) and *Pogostemon heyneanus* Benth (Labiatae) on wistar rats and *Allium cepa* Linn. (Liliaceae) root tip cells. **Revista Brasileira de Genética** v. 17, p. 175-180, 1994.

FACHINETTO, J. M. et al. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 49-54, 2007.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, Paraná, v. 12, Edição especial, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, F. W. S. **Levantamento da vegetação da caatinga utilizada na alimentação animal no oeste potiguar**. 2014. 64f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró. 2014.

FISKESJÖ, G. The *Allium test* as standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Landskrona, Suécia, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

GRISOLIA, C. K. *In vitro* and *in vivo* tests in humans confirm that the antimalarial drug meflquine is not mutagenic. **Brazilian Journal of Genetics**, v.18, p.611-615, 1995.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana**. São Paulo: Funpec, 2002. 131p.

HARAGUCHI, M. Plantas tóxicas de interesse na pecuária. **Biológico**, v.65, n.1/2, p.37-39, 2003.

HILALY, J.E.; ISRAILI, Z.H.; LYOUSSI, B. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**. n. 91, p. 43-50, 2004.

HOLLAND, N. et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. **Mutation Research**, v. 659, p. 93-108, 2008.

HOSHINA, M. M. **Avaliação da possível contaminação das águas do Ribeirão Claro, município de Rio Claro, pertencente à bacia do rio Corumbataí, por meio de testes de mutagenicidade em *Allium cepa***. 2002. 52f. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 2002.

HUTABARAT, L. S.; GREENFIELD, H.; MULHOLLAND, M. Quantitative determination of isoflavones and coumestrol in soybean by column liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 886, p. 55-63. 2000.

ITOYAMA, M. M. et al. Effects of caffeine on mitotic index in *Drosophila prosaltans* (Diptera). **Brazilian Journal of Genetics**, v.20, p. 655-657, 1997.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do Rio Corumbataí, São Paulo**. 2004. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

KNOLL, M. F. et al. Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 539-542, 2006.

LIMA MCJSL AND SOTO-BLANCO B. 2010. Poisoning in goats by *Aspidosperma pyrifolium* Mart.: Biological and cytotoxic effects. *Toxicol.* 55:320-324.

LONGHIN, S. R. **Estudo da degradação dos antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina e ampicilina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos**. 2008. 154 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

LOPES, S.G. **Fundamento da Toxicologia Clínica**. São Paulo: Editora Atheneu, 2006.

LÚCIO, E. M. R. A et al. Avaliação toxicológica aguda e screening hipocrático da epilsopilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 9, n. 10, p. 23-25, 2000.

MACEDO, J. F. M. et al. Estudo da genotoxicidade do extrato de *Abelmoschus esculentus* (Quiabo) pelo teste *Allium cepa*. **Revista Saúde em Foco**, v. 1, n. 1, art. 2, p. 15-28. 2014.

MALONE, M.H.; ROBICHAUD, R.C. The Pharmacological Evaluation of Natural Products – General and Specific Approaches to Screening Ethno Pharmaceuticals. **Journals Ethnopharmacology.**, v. 8, p.127-147, 1983.

MATEUCA, R. et al. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring, **Biochimie**, v. 88, p. 1515–1531, 2006.

MAVOURNIN, K. H,et al .The *in vivo* Micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency. Gene-Tox Program. **Mutation Research**, v. 239, p. 29-80, 1990.

MEDEIROS, R. M. T. et al. Mortalidade embrionária e abortos em caprinos causados por *Aspidosperma pyrifolium*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, p. 42-43, 2004.

MELLO, G.W.S. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.1, p.1-9, 2010.

MIGID, H. M. A. et al. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Nova York, Estados Unidos, v. 6, n. 1, p. 57-64, 2007.

MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

NETO, S. A. G. et al. Inquérito epidemiológico sobre plantas tóxicas das mesorregiões Central e Oeste do Rio Grande do Norte. **Ciência Rural**, Santa Maria, Rio Grande do Sul, v. 43, n. 7, p. 1281-1287, 2013.

NÓBREGA, M. G. L. A. **Perfil fitoquímico e farmacológico da *Aspidosperma pyrifolium* Mart. “Ensaio pré-clínicos”**. 2008. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

NOLDIN, V. F. et al. Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. Cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 331-334, 2003.

Organisation For Economic Cooperation and Development - OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development; 2001.

RICE, E. L. **Allelopathy**. 2 ed. Orlando, Academic Press., 1984.

RIET-CORREA, F. et al. **Plantas tóxicas do Nordeste**. Sociedade Vicente Pallotti Editora. Universidade Federal de Campina Grande, Patos – PB. 2011. 79 p.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa veterinária brasileira**, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 38-42, 2001.

ROSSETI, A. C. P. A.; CORSY, M. **Projeto CAPIM – Pesquisa e Extensão**; Departamento de Zootecnia, ESALQ-USP. Abril de 2009.

SALAMONE, M et al. Towards an improved micronucleus test: studies on 3 model agents, mitomycin C, cyclophosphamide and dimethylbenzanthracene. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 74, p. 347-356. 1980.

SANTOS, P. B. S. **Contribuição ao estudo químico, bromatológico e atividade biológica de Angico *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Var. Cebil (Gris.) Alts E PEREIRO *Aspidosperma pyrifolium* Mart.** 2010. 46 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia: Área de Concentração em Sistemas Agrossilvipastoris no Semi Árido. Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2010.

SILVA, D. M. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesquisa veterinária brasileira**, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 223-236, 2006.

SILVEIRA, P. F; BANDEIRA, M. A. M; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p. 618-26, 2008.

TEIXEIRA, R. O. et al. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in *in vivo* assays. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003.

TORRES, A. L. et al., Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *plutella xylostella*. **Bragantia**, Campinas, São Paulo, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.2, p.289-306, 2006

VICENTINI V. E. P. et al. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum**, Maringá, Paraná, v. 23, n. 2, p. 593-598, 2001.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**, 4th edn. Prentice Hall, Upper Saddle River. 1999.

# CAPÍTULO 18

## POTENCIAL TÓXICO, CITOTÓXICO E MUTAGÊNICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE *Licania rigida* (CHRYSOBALANACEAE) EM CÉLULAS *IN VIVO*

DOI: 10.47402/ed.ep.c202173017585

**Naama Jessica de Assis Melo**, Doutora em Fitotecnia, Assistente de Laboratório, UFERSA  
**Edigleyce de Lima Costa Menezes**, Mestra em Produção Animal, Técnica de Nível Superior, UERN

**Eliezer Fernandes da Silva Filho**, Mestre em Produção Animal, Professor de biologia Ceamo

**José Carlos da Silveira Pereira**, Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular, Professor, FACENE/RN

**Thaís Lucena de Oliveira**, Acadêmica de ciências biológicas, UFCG

**Matheus Medeiros Nunes**, Acadêmico de ciências biológicas, UFCG

**Francisca Vitória Amaral Nóbrega**, Especialista em Gestão Ambiental, UNIFIP **Marcos**

**Antonio Nobrega de Sousa**, Doutor em genética, Professor Associado, UFCG

### RESUMO

Plantas tóxicas de interesse pecuário ocasionam prejuízos relevantes aos produtores. No Nordeste brasileiro, essas plantas causam perdas econômicas diretas e indiretas por prejudicarem a saúde dos animais. Entre estas plantas está incluída *Licania rigida*, espécie popularmente denominada como oiticica. É encontrada na maioria dos estados do Nordeste e suas folhas podem ser utilizadas na alimentação de caprinos e ovinos na região do semiárido. Foram avaliados os efeitos tóxico, citotóxico e mutagênico de extratos aquosos de folhas de *L. rigida* em *Allium cepa* (cebola) e em camundongos *Swiss* (*Mus musculus*). Para avaliações em bulbos de cebola (crescimento de raízes e índice mitótico) foram utilizadas folhas secas e frescas, no seguinte delineamento experimental: controle negativo: (água destilada); concentração de 5 mg/L, 50 mg/L e 300 mg/L do extrato. E para camundongos foram utilizadas apenas o extrato de folhas secas para avaliação comportamental, de mortalidade (DL50), mutagenicidade (teste do micronúcleo) e citotoxicidade (células binucleadas). Não houve citotoxicidade, mas sim efeito subletal na concentração de 300 mg/L do extrato de folhas frescas e pode ter ocorrido efeito alelopático dos dois tipos de extratos sobre os bulbos de cebola. Em camundongos, o extrato de folhas secas ocasionou mudanças comportamentais e apresentou toxicidade (DL50=502,76 mg/kg). Não foram evidenciadas mutagenicidade e citotoxicidade, pois os resultados entre os tratamentos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

**PALAVRAS-CHAVE:** Alelopatia, *Allium cepa*, Medula óssea, *Mus musculus*.

### INTRODUÇÃO

Plantas tóxicas de interesse pecuário ocasionam prejuízos relevantes aos produtores em todo o mundo. No Brasil, essas plantas causam perdas econômicas diretas e indiretas. As diretas

podem ser: a morte de animais, baixo índice reprodutivo (abortos, malformações e infertilidade), baixa produtividade nos animais sobreviventes e outras alterações devidas a doenças transitórias, enfermidades subclínicas com diminuição da produção de leite, lã ou carne, e aumento da susceptibilidade a outras doenças devido à depressão imunológica. Já as perdas indiretas, incluem os custos para o controle das plantas tóxicas nas pastagens, as medidas de manejo para evitar as intoxicações como a utilização de cercas e o pastoreio alternativo, a redução do valor da forragem devido ao atraso na sua utilização, a redução do valor da terra, a compra de novos animais para substituir aqueles mortos, e os gastos associados ao diagnóstico das intoxicações e ao tratamento dos animais afetados (Riet-Correa e Medeiros, 2001; Riet-Correa et al., 2007).

No Rio Grande do Norte, na região do Seridó Ocidental e Oriental, *Ipomea asarifolia* e *Aspidosperma pyrifolium* são as plantas mais importantes como causa de intoxicação para ruminantes (Silva et al., 2006). A espécie *Licania rigida*, também presente nesta região, apesar de não ser apontada como uma das principais plantas tóxicas, também ocasiona efeitos prejudiciais aos animais, especialmente caprinos e ovinos (Leal et al., 2005). O consumo de suas folhas ocasiona compactação ruminal (Assis et al., 2009). Contudo, não se tem conhecimento sobre seus efeitos citotóxicos, tóxicos e mutagênicos a nível celular.

Pouco se conhece sobre os efeitos fisiológicos decorrentes do consumo de *L. rigida*. Assim como, não há evidências de estudos em relação às consequências tóxicas, citotóxicas e mutagênicas. Ensaio que detectam componentes mutagênicos, tóxicos e citotóxicos permitem identificar substâncias com risco potencial aos animais (Andreassi et al., 2000).

Sistemas testes vegetais, como o de *Allium cepa* L., têm sido utilizados para o estudo dos efeitos de extratos vegetais, visando a detecção de toxicidade e citotoxicidade (Fachinetto et al., 2007). Esse sistema também tem importância no monitoramento da poluição ambiental e avaliação do potencial mutagênico de muitos compostos químicos. Além de sua grande utilização nos testes de citotoxicidade/mutagenicidade de compostos químicos e monitoramento da poluição ambiental, o sistema vegetal de *A. cepa* pode ser utilizado para estudos de extratos de plantas medicinais e plantas tóxicas de interesse pecuário. As células meristemáticas de raízes de *A. cepa* são indicadores apropriados para a detecção destes efeitos (Ma et al., 1995).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade tóxica e citotóxica dos extratos aquosos obtidos das folhas secas de *Licania rigida* sobre o sistema *Allium cepa* e

a capacidade tóxica aguda e mutagênica sobre células da medula óssea de camundongos albinos *Swiss*, da espécie *Mus musculus*.

## METODOLOGIA

No município de Angicos, na fazenda Vista Bela, foram coletadas as folhas de *Licania rigida* durante a estação seca. Sua identidade botânica foi obtida no Herbário Dárdano de Andrade-Lima da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), sob o código 14523 (imagem do material vegetal identificado em anexo). As folhas foram armazenadas à temperatura ambiente em sacos plásticos para o transporte posterior ao laboratório de Genética e Evolução, na UFERSA.

Para a obtenção do extrato aquoso do material vegetal seco, folhas frescas de *Licania rigida* foram coletadas, desidratadas em bancada a temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e depois trituradas em liquidificador até sua transformação em um pó fino. O extrato aquoso foi obtido a partir deste pó, pela adição de água destilada (10g de pó em 100 ml de água destilada), deixando a mistura em descanso por 24 horas. A mistura obtida foi filtrada em tecido organza, o material foi centrifugado a 2000 rpm por cinco minutos e estocado a  $5^{\circ}\text{C}$  para uso posterior (Torres *et al.*, 2006).

Para a preparação do extrato aquoso do material vegetal fresco de *L. rigida*, folhas frescas (100 g) foram lavadas e homogeneizadas em 1000 mL de água destilada em liquidificador comum, por cerca de 10 minutos. O material foi filtrado em tecido organza e em seguida centrifugado por 30 minutos a 2000 rpm. O sobrenadante foi retirado e estocado a  $5^{\circ}\text{C}$  até o momento da sua utilização (Barbosa, 2008).

Os ensaios de toxicidade com bulbos de *Allium cepa* para a avaliação do extrato aquoso de folhas secas e do extrato aquoso de folhas frescas de *L. rigida* seguiram a metodologia descrita por Fiskesjo (1988), com algumas modificações. Para cada grupo avaliado foram incubadas seis cebolas em iguais condições. Cada ensaio (extrato seco e extrato fresco) foi composto por: controle negativo: (água destilada); grupo com concentração de 5 mg/L do extrato; grupo com concentração de 50 mg/L do extrato; e grupo com concentração de 300 mg/L do extrato.

Após 72 horas, o comprimento das três maiores raízes de cada cebola foi medido utilizando um paquímetro digital. Foi calculado o Índice de Crescimento Relativo (ICR), por meio da divisão entre o comprimento da radícula na amostra e o comprimento da radícula no

controle negativo, de acordo com Young *et al.* (2012), dado este utilizado para obter a inibição relativa (%).

A avaliação de citotoxicidade pelo índice mitótico foi realizada com bulbos de cebola (extrato de folhas secas e extrato de folhas frescas). Para a determinação do índice mitótico foi utilizada a técnica de esmagamento (Guerra e Souza, 2002), com modificações. Foram contadas, em teste cego, 2000 células por tratamento. O índice mitótico foi obtido dividindo-se o número de células em mitose pelo número total de células observado e multiplicando-se por 100. O Valor Limite de Citotoxicidade foi calculado a partir da divisão do índice mitótico da amostra pelo índice mitótico do controle negativo e multiplicando-se por 100.

Para todos os ensaios com animais, utilizou-se o extrato aquoso obtido de folhas secas de *L. rigida*. Um total de 54 camundongos da linhagem *Swiss* (*Mus musculus*) (25-40g), compostos por 27 machos e 27 fêmeas, foram obtidos no biotério da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e mantidos no biotério do laboratório de Farmacognosia e Farmacologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Foram utilizados na avaliação da DL50 (dose letal mediana) e nas análises de mutagenicidade.

O protocolo experimental foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) (Parecer N° 27/2014). Todos os animais foram tratados em conformidade com os princípios definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), obedecendo, também, aos preceitos da legislação brasileira (Lei Arouca - Lei n° 11794, de 8 de outubro de 2008).

A toxicidade aguda foi estabelecida por meio da estimativa da DL50 (dose letal mediana). Foi realizada de acordo com *Acute Toxic Class Method* (OECD, 2001) para teste de dose aguda tóxica (*Guideline* 423). De acordo com o guia da OECD, os três primeiros níveis de doses estabelecidas foram: 5, 50 e 300 mg/kg. E mais uma dose de 600 mg/kg também foi utilizada.

Os ensaios foram realizados com 30 camundongos *Swiss*, divididos em cinco grupos. Estes grupos foram: controle negativo, recebendo solução salina 0,9% (m/v), i.p., no volume de 10 ml/kg de peso corporal, segundo Lúcio *et al.* (2000); e quatro grupos recebendo doses de 5, 50, 300 e 600 mg/kg do extrato aquoso de *Licania rigida*, respectivamente. A solução salina e o extrato aquoso foram administrados intraperitonealmente uma única vez. Os parâmetros de

toxicidade aguda foram monitorados através do registro do número de mortes de animais por grupo.

Foi realizada a observação dos grupos experimentais para a realização do *Screening* Hipocrático. As observações foram realizadas no momento logo após a aplicação do extrato, por 24 horas, 48 horas e diariamente até o 14º dia, com o objetivo de avaliar os efeitos destes sobre os parâmetros: a) Atividade geral; b) Estado consciente e disposição (resposta ao toque, resposta ao aperto de cauda, endireitamento, força para agarrar, tônus do corpo); c) Atividade e coordenação do sistema motor e tônus muscular (auricular, corneal); d) Reflexos (tremores, convulsões, straub); e) Atividade do sistema nervoso central (lacrimação, respiração, salivação, micção, defecação, piloereção) (OECD, 2001). Para cada parâmetro foi utilizado o seguinte grupo de *escores* numéricos: 4- normal; 3- levemente reduzido; 2- moderadamente reduzido; 1- intensamente reduzido; 0-ausente (Brito, 1994).

Para a avaliação da mutagenicidade, os experimentos foram desenvolvidos em quatro grupos de animais, constituídos cada um por seis animais (três machos e três fêmeas), totalizando 24 camundongos. Os tratamentos em cada grupo foram delineados considerando o resultado do ensaio de DL50. Sendo assim, foram testadas três doses do extrato.

Os grupos de animais foram tratados conforme descrito a seguir: controle negativo (solução salina 0,9%, 10 ml/kg); extratos aquosos de *L. rigida* na concentração de 5 mg/kg; 50 mg/kg; e 200 mg/kg, respectivamente. As soluções foram injetadas intraperitonealmente. Após 24 horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical para a coleta do material da medula óssea do fêmur, segundo Bona (2011) com modificações.

Para cada exemplar de camundongo, foram preparadas duas lâminas, onde foram analisados 2000 eritrócitos em cada animal, segundo Bona (2011), e foram contados o número de micronúcleos e o número de células binucleadas. A análise foi realizada e as imagens foram fotografadas em microscópio da marca Nikon, modelo Eclipse E-200, em objetiva de imersão, com aumento de 1000x acoplado a uma câmera digital com resolução de 12 megapixels.

Para os dados de crescimento de raízes foi realizada Análise de variância (ANOVA) ( $p < 0,05$ ) e para a avaliação do índice mitótico, foi realizada Análise de Variância (ANOVA) ( $p < 0,05$ ), completado com o teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

Para a análise estatística do teste de toxicidade aguda, a dose letal mediana (DL50) foi realizado o método clássico de regressão linear segundo descrito Litchfield e Wilcoxon (1949).

Para a avaliação dos pesos dos machos e das fêmeas durante o *screening* hipocrático foi utilizada Análise de Variância (ANOVA),  $p < 0,05$  com auxílio do teste Tukey. Em todos os animais, a análise estatística do teste do micronúcleo foi realizada em uma comparação entre a frequência de micronúcleos e as diferentes concentrações (tratamentos) com uso da Análise de Variância (ANOVA),  $p < 0,05$  e posterior aplicação do teste de Dunnett. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software R (versão 3.2.0).

## RESULTADOS

Os resultados do teste de toxicidade dos extratos aquosos de folhas secas e frescas sobre o crescimento de raízes de bulbos de *A. cepa* L. e do teste de inibição estão apresentados na tabela 1.

**Tabela 1:** Inibição relativa do crescimento das raízes de bulbos de *Allium cepa* L. expostas ao controle negativo e às diferentes concentrações dos extratos aquosos de folhas secas (EAFS) e frescas (EAFF). Os valores foram expressos em médias  $\pm$  desvio padrão. \* ( $p < 0,05$ ) corresponde à diferença significativa entre as concentrações dos extratos e o controle negativo. Método de Análise de Variância (ANOVA).

Concentração	EAFS		EAFF	
	Média do crescimento de raízes (mm)	Inibição relativa (%)	Média do crescimento de raízes (mm)	Inibição relativa (%)
Controle -	6,9 $\pm$ 9,0	100	21,0 $\pm$ 15,0	100
5 mg/L	1,6 $\pm$ 2,6	76,8	14,0 $\pm$ 12,0	33,3
50 mg/L	8,9 $\pm$ 6,7	-29	28,0 $\pm$ 12,0	-33,3
300 mg/L	2,64 $\pm$ 3,0	62,3	4,6 $\pm$ 4,0	78,1

**Fonte:** os autores

No crescimento das raízes dos bulbos de cebola expostas às concentrações do extrato de folhas secas de *L. rigida* não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações testadas e o controle negativo. Dessa forma, não se pode afirmar que o extrato preparado com as folhas secas é tóxico nessas concentrações para o crescimento de raízes de *A. cepa*. Entretanto, na concentração de 50 mg/L, não houve inibição do crescimento, mas sim um estímulo, diferentemente do que ocorreu nas concentrações de 5 mg/L e 300 mg/L.

Na análise do crescimento das raízes expostas às concentrações do extrato de folhas frescas, observou-se também uma estimulação do crescimento das raízes na concentração de 50 mg/L. Nas concentrações de 5 mg/L e 300 mg/L (menor valor entre os tratamentos) houve uma redução do crescimento.

Com relação aos valores do teste de inibição relativa, resultados semelhantes foram encontrados para ambos os extratos. As concentrações de 5 mg/L e 300 mg/L inibiram o crescimento das raízes de *A. cepa* em relação ao crescimento do controle negativo, enquanto que a concentração de 50 mg/L estimulou, o que gerou valores negativos de inibição relativa (Tab. 1).

Assim, devido aos extratos de folhas secas e frescas terem exercido influência sobre o crescimento de raízes de bulbos de *A. cepa* sugere-se possivelmente, que, existe a presença de substâncias alelopáticas (o termo alelopatia refere-se à capacidade que as plantas têm de interferir no desenvolvimento de outras plantas por meio de substâncias que liberam na atmosfera ou, quase sempre, no solo), que quando liberadas em quantidades suficientes causam inibição ou estimulação (dependendo da concentração) da germinação, crescimento e/ou desenvolvimento de plantas já estabelecidas (Chon et al., 2005).

As alterações também podem ser causadas por substâncias do metabolismo secundário de *L. rigida* como: flavonoides, principalmente miricetina, dipertenos (1 $\beta$ , 16 $\alpha$ , 17-trihidroxicaurano), triterpenos (lupeol, ácido betulínico e esqualeno), esteróides ( $\beta$ -sitosterol e estigmasterol livres e glicosilados), tocoferóis ( $\alpha$ -tocoferol e  $\alpha$ -tocotrienol), ácido graxo (ácido licânio) e a licanolina (4,6-dicumaroil-1-metoxiciclopiranose) (Bezerra, 2011).

Nos ensaios de citotoxicidade foram avaliados dois parâmetros: o índice mitótico (IM) de células meristemáticas de raízes de bulbos de *A. cepa*; e o valor limite de toxicidade (%) (Tab. 2).

As diferenças observadas no índice mitótico não foram estatisticamente significativas em relação ao controle negativo, a 5% de probabilidade. Contudo, foi observado que as concentrações de 5 mg/L e 50 mg/L do extrato aquoso de folhas secas não dificultaram a divisão celular, diferentemente da concentração de 300 mg/L.

Já as concentrações do extrato de folhas frescas reduziram o índice mitótico, prejudicando a divisão celular, demonstrado pelos valores limite de citotoxicidade de cada grupo (Tab. 2).

**Tabela 2:** Índice mitótico (%)  $\pm$  desvio padrão (SD), número de células nas diferentes fases do ciclo celular  $\pm$  Desvio padrão e valor limite de citotoxicidade (VLC %) de células de raiz de bulbos de *Allium cepa* após exposição ao controle negativo e diferentes concentrações do extrato aquoso de folhas secas e frescas. ns = não significativo, a=efeito subletal.

Extrato	Concentração	IM (%)	Fases				VLC (%)
			Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	
Aquoso de folhas secas	0 mg/L	4,4 $\pm$ 1,27	27,5 $\pm$ 6,36	13 $\pm$ 5,65	3,5 $\pm$ 0,7	0 $\pm$ 0	100
	5 mg/L	4,8 $\pm$ 0 <sup>ns</sup>	32 $\pm$ 0 <sup>ns</sup>	9 $\pm$ 0 <sup>ns</sup>	5 $\pm$ 0 <sup>ns</sup>	2 $\pm$ 0 <sup>ns</sup>	109,1
	50 mg/L	6,1 $\pm$ 1,27 <sup>ns</sup>	50,5 $\pm$ 10,6 <sup>ns</sup>	6,5 $\pm$ 0,7 <sup>ns</sup>	3 $\pm$ 1,41 <sup>ns</sup>	1 $\pm$ 0 <sup>ns</sup>	138,6
	300 mg/L	4,05 $\pm$ 0,49 <sup>ns</sup>	28 $\pm$ 8,48 <sup>ns</sup>	8 $\pm$ 8,48 <sup>ns</sup>	2,5 $\pm$ 2,12 <sup>ns</sup>	2 $\pm$ 2,82 <sup>ns</sup>	92
Aquoso de folhas frescas	0 mg/L	5,3 $\pm$ 0,28	34,5 $\pm$ 2,12	11 $\pm$ 4,24	7 $\pm$ 4,24	0,5 $\pm$ 0,7	100
	5 mg/L	3 $\pm$ 0,84 <sup>ns</sup>	22 $\pm$ 2,82 <sup>ns</sup>	4,5 $\pm$ 2,12 <sup>ns</sup>	3 $\pm$ 2,82 <sup>ns</sup>	0,5 $\pm$ 0,7 <sup>ns</sup>	56,6
	50 mg/L	4,05 $\pm$ 0,49 <sup>ns</sup>	23 $\pm$ 4,24 <sup>ns</sup>	11,5 $\pm$ 3,53 <sup>ns</sup>	5,5 $\pm$ 4,94 <sup>ns</sup>	0,5 $\pm$ 0,7 <sup>ns</sup>	76,4
	300 mg/L	2,15 $\pm$ 1,06 <sup>ns</sup>	17 $\pm$ 5,65 <sup>ns</sup>	4 $\pm$ 4,24 <sup>ns</sup>	0,5 $\pm$ 0,7 <sup>ns</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>ns</sup>	40,6 <sup>a</sup>

**Fonte:** os autores

Migid *et al.* (2007) afirmam que uma redução do índice mitótico para valores limite de citotoxicidade abaixo de 22% em relação ao controle negativo, causa efeito letal nos organismos testes, enquanto que uma redução abaixo de 50% tem efeito subletal. Este efeito subletal foi observado nos bulbos da concentração de 300 mg/L do extrato aquoso de folhas frescas (Tab. 2)

Os testes de citotoxicidade realizados pelo sistema teste de *A. cepa* baseiam-se em diversos parâmetros de análise, como por exemplo, padrões nucleolares atípicos, como células binucleadas. A diminuição do índice mitótico é a consequência de compostos tóxicos nas células, evidenciando claramente a manifestação de distúrbios do processo mitótico (Bagatini *et al.*, 2007).

Segundo Fernandes *et al.* (2007), o nível de citotoxicidade de um composto teste pode ser determinado com base no aumento ou na redução do índice mitótico, o qual pode ser usado como parâmetro de citotoxicidade em estudos de avaliações de toxicidade de extratos de plantas.

Valores de índices mitóticos (IM) menores que os do controle negativo podem indicar que o crescimento e o desenvolvimento dos organismos bioindicadores estão sendo afetados pelos compostos avaliados. Em contrapartida, valores de IM acima do encontrado no controle negativo são resultado do aumento da divisão celular, o qual pode caracterizar um evento prejudicial para as células, pois pode culminar em uma proliferação descontrolada ou, até mesmo, a formação de tumores (Hoshina, 2002).

Ambas as situações foram observadas neste trabalho, nas concentrações de 5 mg/L e 50 mg/L dos ensaios com extrato de folhas secas foram constatados índices mitóticos maiores que o do controle negativo e nas três concentrações do extratos de folhas frescas foram observados índices menores que o do controle.

De acordo com Hoshina (2002), o aumento ou a redução do índice mitótico pode ser um importante bioindicador de toxicidade de extratos de plantas, principalmente aqueles com potenciais compostos citotóxicos. A redução do índice mitótico em células meristemáticas de *A. cepa* pode ser considerado um método seguro para determinar a presença de compostos citotóxicos.

Diante disso, é possível observar pelo valor limite de citotoxicidade que extrato aquoso de folhas frescas de *L. rigida* possui maior efeito citotóxico que o extrato de folhas secas. A possível ausência dos compostos do metabolismo secundário no extrato de folhas secas pode ter estimulado as células a se dividirem, aumentando então o índice mitótico em relação ao ensaio com o extrato de folhas frescas (Bagatini *et al.*, 2007).

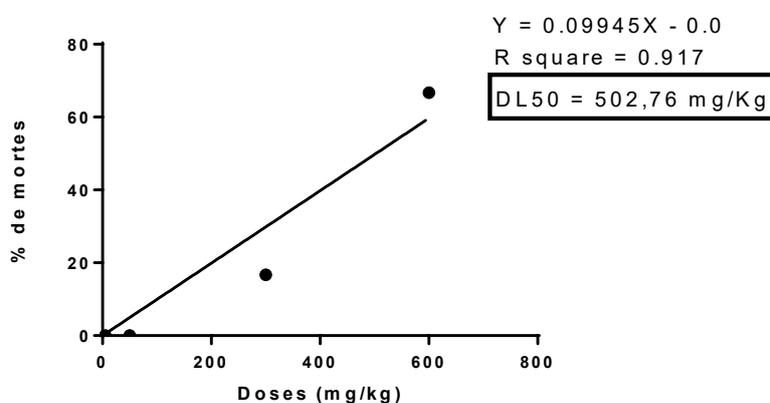
No cálculo da toxicidade aguda a maior concentração aplicada (600 mg/kg) ocasionou o maior número de mortes de camundongos. Isso indica uma intensidade no efeito do extrato nesta concentração sobre a população em questão, tanto em machos quanto em fêmeas. No entanto, a partir da concentração de 300 mg/kg já foi possível registrar início de mortalidade nos machos, enquanto que nas fêmeas só ocorreu a partir da concentração 600 mg/kg.

As mortes ocorreram de 24 a 48 horas após o tratamento. Isso indica que o extrato deve ter uma absorção bastante rápida nos tecidos dos animais, levando à morte prematuramente (Mariz *et al.*, 2006).

Os resultados para a DL50 indicaram que a concentração de extrato aquoso de *L. rigida* letal para 50% da população é 502,76 mg/kg, como observado pela regressão linear, a partir da equação  $Y=0,09945X - 0,0$  (Fig. 1).

De acordo com o guia 423 da OECD (2001), o extrato aquoso de *L. rigida* se enquadra na Classe 4, com toxicidade média (substância com DL50 superior a 300 mg/kg e menor que 2000 mg/kg).

**Figura 1:** Dose letal mediana do extrato aquoso de *Licania rigida* administrado intraperitonealmente em camundongos, obtida por regressão linear.



**Fonte:** os autores

A partir do sétimo dia de avaliação dos parâmetros do *screening* hipocrático foram observadas lesões nos locais de aplicação dos extratos nos grupos de animais que receberam 300 mg/kg e 600 mg/kg do extrato de *L. rigida*. Tal efeito indica um intenso processo de necrose nas células dessa região. As lesões permaneceram durante todos os dias subsequentes de avaliações. Estas lesões podem ter sido ocasionadas devido a um intenso processo inflamatório provocado pelo extrato de *L. rigida*.

O acompanhamento da massa corporal do animal é um importante indicador para a avaliação da toxicidade de uma substância (Jahn e Gunzel, 1997). Tendo isso em vista, foi verificado o peso médio dos machos e das fêmeas de todos os grupos tratados.

Nas médias de peso de machos (Tab. 3), houve diferença estatisticamente significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância em relação ao grupo controle (0 mg/kg) e as concentrações de 5 mg/kg e 300 mg/kg. Os animais tratados com estas concentrações do extrato aquoso de folhas secas de *L. rigida* demonstraram peso menor que o grupo controle. Tal fato indica possíveis efeitos tóxicos, dificultando a digestão dos alimentos e absorção dos nutrientes, afetando o ganho de peso dos animais (Mariz *et al.*, 2006).

Com relação às médias de peso das fêmeas (Tab. 3), o comportamento entre os indivíduos deste mesmo sexo foi semelhante em todos os grupos tratados. E quando foram comparados os resultados entre machos e fêmeas, não houve diferenças estatisticamente

significantes. Estes resultados, de acordo com González e Silva (2003), que verificaram que o ganho de peso dos machos é semelhante ao das fêmeas. Mas, a toxicidade sistêmica em camundongos e ratos pode ser avaliada por meio da alteração no peso dos animais.

**Tabela 3:** Peso médio dos machos e das fêmeas dos grupos controle (0 mg/kg) e tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso de folhas de *Licania rigida*. \*Valores estatisticamente diferentes do grupo controle (ANOVA seguido de Tukey,  $p < 0,05$ ).

Concentração	Peso médio					
	Fêmeas	npf	Machos	npm	Total	Npt
Controle	35,57±0,68	3	42,90±0,3	3	39,23±4,04	6
5 mg/Kg	34,13±1,94 <sup>ns</sup>	3	30,43±3,84 <sup>ns</sup>	3	32,28±3,39 <sup>ns</sup>	6
50 mg/Kg	33,23±0,61 <sup>ns</sup>	3	41,30±0,5 <sup>ns</sup>	3	37,26±4,44 <sup>ns</sup>	6
300 mg/Kg	31,37±1,96 <sup>ns</sup>	3	34,30±1,57 <sup>ns</sup>	3	32,83±2,25 <sup>ns</sup>	6
600 mg/Kg	34,80±2,46 <sup>ns</sup>	3	37,83±0,59 <sup>ns</sup>	3	36,31±2,30 <sup>ns</sup>	6

ns=não significante

**Fonte:** os autores

Na análise do *screening* hipocrático, durante as primeiras 24 horas após a administração intraperitoneal do extrato aquoso de *L. rigida*, houve redução na atividade geral e na resposta ao toque dos grupos de animais tratados com 300 mg/kg e 600 mg/kg. Foram observadas alterações em ambos os sexos, principalmente nos animais nos quais foram injetadas as concentrações de 300 mg/kg e 600 mg/kg, como: resposta ao aperto de cauda, endireitamento, força para agarrar, tônus do corpo, atividade e coordenação do sistema motor (auricular e corneal) e na respiração.

Os resultados acima reportados estão de acordo com González e Silva (2003), que afirmam que a toxicidade sistêmica de determinada substância ou grupo de substâncias pode se manifestar por meio da redução no consumo de água e ração, alteração comportamental, apatia e má condição de pelagem.

Na avaliação da frequência de micronúcleos foi observado que os grupos avaliados demonstraram resultados diferentes. Nas concentrações de 5 mg/kg e 200 mg/kg houve um estímulo na produção de micronúcleos em relação ao controle negativo, enquanto que na concentração de 50 mg/kg houve uma pequena redução.

Entretanto, as diferenças entre os tratamentos e os grupos controle não foram estatisticamente significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Dunnett. O número de células binucleadas também foi analisado nos grupos com as concentrações do extrato

aquoso de folhas secas de *L. rigida*, mas, não foram verificadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) com a Análise de Variância seguida pelo teste de Dunnett (Tab. 4).

**Tabela 4:** Avaliação da frequência de micronúcleos e de células binucleadas em eritrócitos de camundongos expostos ao controle negativo (0 mg/kg) e as diferentes concentrações do extrato aquoso de folhas secas de *L. rigida*. Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de Dunnett.

Concentração	Total de células	MN±SD	BN±SD
Controle	6000	4,7±2,7	3,66±1,96
5 mg/Kg	6000	6,5±2,0 <sup>ns</sup>	5,5±1,76 <sup>ns</sup>
50 mg/Kg	6000	3,7±1,9 <sup>ns</sup>	5,83±2,13 <sup>ns</sup>
200 mg/Kg	6000	6,7±4,0 <sup>ns</sup>	5,0±2,68 <sup>ns</sup>

MN=micronúcleos, SD=Desvio Padrão, BN=binucleadas, ns=não significativo.

**Fonte:** os autores

Na análise de mutagenicidade, a avaliação da indução de micronúcleos é o principal teste *in vivo* dentre outros testes e é recomendado por agências fiscalizadoras em todo mundo como parte da avaliação de segurança dos produtos químicos e naturais. O ensaio detecta efeitos clastogênicos (quebras cromossômicas) e aneugênicos (perda de cromossomos inteiros). Um aumento na frequência de micronúcleos em testes com animais tratados com diferentes substâncias e concentrações é uma indicação de dano cromossômico induzido por toxicidade (Wahnschaffe *et al.*, 2005).

As células binucleadas são indicativas de citotoxicidade, decorrente de uma falha no processo de citocinese. O aumento na sua incidência pode prever uma falha no mecanismo de diferenciação celular ou ser secundária a agentes mutagênicos (Holland *et al.*, 2008).

A espécie *L. rigida* possui diversos metabólitos secundários, como dipertenos, esteróides e flavonóides (Bezerra, 2011). Provavelmente estes compostos secundários presentes nas folhas podem ter sido responsáveis pela mutagenicidade e citotoxicidade observada nos eritrócitos de medula óssea dos animais bioindicadores utilizados. Os flavonóides são considerados potencialmente mutagênicos, pois a ação de alguns deles em animais está associada a interações com o ácido desoxirribonucleico (DNA) (Sánchez-Lamar *et al.*, 2008).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os bulbos de *Allium cepa* foram sensíveis aos extratos aquosos de folhas secas e frescas de *Licania rigida*, com efeito subletal na concentração de 300 mg/L desta última. A ação dos

extratos aquosos de folhas secas e frescas de *L. rigida* provoca efeito alelopático sobre bulbos de cebola, de acordo com a concentração aplicada.

O extrato aquoso de folhas secas de *Licania rigida* possui efeito tóxico em camundongos, ocasionando mudanças comportamentais e, dependendo da dose, causa a morte. Não houve citotoxicidade, mas sim efeito subletal na concentração de 300 mg/L e não houve ação mutagênica sobre os eritrócitos da medula óssea de camundongos nas concentrações estudadas.

Estudos posteriores são necessários para confirmar estes resultados para a população de animais de produção do semiárido que consomem as folhas de *L. rigida* na alimentação, a fim de melhorar o manejo e evitar perdas econômicas para os produtores.

## REFERÊNCIAS

ANDREASSI, M. G. et al. Genetic instability and atherosclerosis: can somatic mutations account for the development of cardiovascular diseases. **Environ. Mol. Mutagen.**, v. 35, p. 265-269, 2000.

ASSIS, T. S. et al. Intoxicações por plantas em ruminantes e equídeos no Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 11, p. 919-924, 2009.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 3, p. 444-447, 2007.

BARBOSA, D. B. **Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e análise preliminar da mutagenicidade do extrato aquoso das folhas de *Anacardium humile* St. Hill. (Anacardiaceae).** 2008. 82 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

BEZERRA, J. N. S. **Estudo fitoquímico de *Licania rigida* Benth (Chrysobalanaceae).** 2011. 158 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

BONA, A. P. **Estudos fitoquímico, alelopático, tóxico e mutagênico de *Erythrina mulungu* Mart. ex. Benth. utilizando bioensaios.** 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2011.

BRITO, A. S. **Manual de ensaios toxicológicos in vivo.** Campinas: Ed. Unicamp, 1994. 116p.

CHON, S. U. et al. Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. **Scientia Horticulturae**, v. 106, p. 309–317, 2005.

FACHINETTO, J. M. et al. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Rev Bras Farmacognosia**, v. 17, p. 49-54, 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pestic. Biochem. Phys.**, v. 88, p. 252–259, 2007.

FISKESJO, G. The *Allium* test: An alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions. **Mutat. Res.**, v. 197, p. 243-269, 1988.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como Observar Cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana**. São Paulo: Funpec, 2002. 131p.

HOLLAND, N. et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMAN Project perspective on current status and knowledge gaps. **Mutation Research**, v. 659, p. 93-108, 2008.

HOSHINA, M. M. **Evaluation of a possible contamination of the waters of the Claro River – municipality of Rio Claro, part of the Corumbataí River Basin, with the mutagenicity tests using *Allium cepa***. 2002. 52 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro, 2002.

JAHN, A. I.; GÜNZEL, P. K. H. The value of spermatology in male reproductive toxicology: do spermatologic examinations in fertility studies provide new and additional information relevant for safety assessment. **Reprod Toxicol.**, v. 11, n. 2-3, p. 171-178, 1997.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. 2º Ed. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2005. 822 p.

LITCHFIELD, J. T.; WILCOXON, F. Simple method of fitting dose-effect curve. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 95, p. 99-113, 1949.

LUCIO, E. M. R. A. et al. Avaliação toxicológica aguda e creening hipocrática de epilsopilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. **Rev Bras Farmacogn**, v. 9, n. 10, p. 23-25, 2000.

MA, T. H. et al. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutat Res.**, v. 334, p. 185-195, 1995.

MARIZ, S. R. et al. Estudo toxicológico agudo do extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. em ratos. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 3, p. 372-378, 2006.

MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Horti Sul**, v.1, n.3, p.27-32, 1990.

MIGID, H. M. A.; AZAB, Y. A.; IBRAHIM, W. M. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.6, n.1, p.57-64, 2007.

NOLDIN, V. F.; MONACHE, F. D.; YUNES, R. A. Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, v.26, n.3, p.331-334, 2003.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development; 2001.

RIET-CORREA, F. et al. Toxic plants for livestock in Brazil: Economic impact, toxic species, control measures and public health implications. In: PANTER, K. E.; WIERENGA, T. L.; PFISTER, J. A. (Eds). **Poisonous Plants: Global research and solutions**. Wallingford: CAB International, 2007. p. 2-14.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 21, n. 1, p. 38-42, 2001.

SÁNCHEZ-LAMAR, A. et al. Assessment of the genotoxic risk of *Punica granatum* L. (Punicaceae) whole fruit extracts. **J. Ethnopharmacol.**, v.115, n.3, p.416-422, 2008.

SILVA, D. M. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental no Rio Grande do Norte. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 4, p. 223-236, 2006.

TORRES, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v. 65, p. 447-457, 2006.

WAHNSCHAFFE, U.; BITSCH, A.; KIELHORN, J. Mutagenicity testing with transgenic mice. Part 1: Comparison with the mouse bone marrow micronucleus test. **Carcinogenesis**, v. 4, n. 3, 2005.

YOUNG, B. J.; RIERA, N. I.; BEILY, M. E.; BRES, P. A.; CRESPO, D. C.; RONCO, A. E. Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n.76, p.182-

# CAPÍTULO 19

## INFLUÊNCIA DE EXTRATOS AQUOSOS DE *IPOMOEA ASARIFOLIA* (CONVOLVULACEAE) EM RAÍZES DE *ALLIUM CEPA* E CÉLULAS DE CAMUNDONGOS

DOI: 10.47402/ed.ep.c202173118585

**Eliezer Fernandes da Silva Filho**, Mestre em Produção Animal, Professor de biologia  
Ceamo

**Edigleyce de Lima Costa Menezes**, Mestra em Produção Animal, Técnica de Nível  
Superior, UERN

**José Carlos da Silveira Pereira**, Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular, Professor,  
FACENE/RN

**Naama Jessica de Assis Melo**, Doutora em Fitotecnia, Assistente de Laboratório, UFERSA

**Maria Vitória Dantas Sampaio**, Acadêmica em Farmácia, FACENE/RN

**Marcela Vitória Dantas Sampaio**, Acadêmica em Farmácia, FACENE/RN

**Francisca Vitória Amaral Nóbrega**, Especialista em Gestão Ambiental- UNIFIP

**Marcos Antonio Nobrega de Sousa**, Doutor em genética, Professor Associado, UFCG

### RESUMO

*Ipomea asarifolia* é uma espécie capaz de causar intoxicação em animais. Mas, é utilizada como planta forrageira em períodos de carência de forragem. Mesmo assim, não há estudos quanto aos efeitos citotóxicos e mutagênicos dessa espécie. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do extrato aquoso de folhas de *I. asarifolia* sobre raízes de bulbos de *Allium cepa* e sobre células da medula óssea, peso e comportamento de camundongos. O Delineamento experimental teve quatro tratamentos (água destilada, 5, 50 e 300 mg/L) de extrato, cada um com cinco repetições, distribuição inteiramente casualizada, tanto para amostras de folhas frescas, quanto para folhas secas. Nenhum dos extratos, tanto o de folhas frescas quanto as secas, apresentaram efeitos significativos nas raízes de bulbos de *Allium cepa*, quanto a: inibição de crescimento, efeitos tóxicos, e citotóxicos. Entretanto, o extrato de folhas secas nas concentrações de 5 mg/L e 300 mg/L provocou efeito subletal. Para estudos com camundongos foram usadas as concentrações de 5, 50, 300 e 600 mg/L. para estudo do peso e toxicidade e 0, 5, 50 e 400 mg/L para estudos mutagênicos e citotóxicos. A Dose Letal Mediana (DL<sub>50</sub>) obtida foi 754,26 mg/Kg. Foi observado que não houve efeito citotóxico, nem mutagênico nas células da medula óssea, nem diferença significativa na perda de peso de machos e fêmeas de camundongos. No entanto, estes resultados inéditos sobre o efeito subletal dos extratos de folhas secas vão de encontro ao conhecimento de que as folhas de salsa secas não prejudicam os animais. Estudos posteriores são necessários sobre o uso deste tipo de alimento para os animais de produção.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Ipomea*, Toxicidade, Citotoxicidade, Mutagenicidade, Plantas.

## INTRODUÇÃO

*Ipomoea asarifolia* conhecida popularmente como salsa, batatarana, batata salsa, salsa-brava é uma liana perene de hábito rasteiro da família *Convolvulaceae* (KILL; RANGA, 2003), nativa da América tropical, encontrada principalmente nas regiões da América do Sul e Central (ARAÚJO 2008). É conhecida por causar a síndrome tremorgênica em ovinos (GUEDES, 2007), caprinos (MEDEIROS, 2003; ARAUJO et al, 2008), bovinos e bubalinos (BARBOSA, 2005). Esta intoxicação comum na região Nordeste (MEDEIROS, 2003) e Norte (BARBOSA, 2005) do Brasil é caracterizada por tremores na cabeça e pescoço. Inicialmente eles são finos e discretos, com o balançar da cabeça; mas com tempo prolongado de intoxicação podem promover ataxia cerebelar com tremores severos, andar incoordenado com rigidez dos membros, e membros abertos (LOPES, 2014).

O consumo desta planta por animais ocorre geralmente devido à fome na estação seca, quando devido à carência de forragem, eles acabam ingerindo grandes quantidades. O que é agravado devido a mesma permanecer verde durante todo o ano (ARAÚJO et al, 2008). Para evitar esta situação muitos ensaios toxicológicos podem ser utilizados para determinar o efeito nocivo que agentes físicos, químicos e biológicos podem produzir nos animais (ARRAES; LONGHIN, 2012).

O teste de *Allium cepa* é uma das ferramentas úteis para pesquisa básica do potencial tóxico e citotóxico de produtos químicos, e substâncias complexas em plantas (CUCHIARA et al., 2012). Estudos epidemiológicos e laboratoriais vêm demonstrando que produtos vegetais podem exercer efeitos tóxicos pela produção de metabólitos secundários, causando desde resistência vascular até teratogenicidade em embriões de roedores (LATHER, 2011; OUEDRAOGO, 2012; CUNHA, 2013). Além disso, as substâncias mutagênicas presentes podem interagir com os ácidos nucleicos e ocasionar mutações hereditárias em células germinativas, e formação de tumores benignos ou malignos em células somáticas (ARUOMA, 2003; ROSS; MARGOLIS, 2005).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do extrato aquoso de folhas secas e frescas de *Ipomoea asarifolia* tendo como bioindicador o sistema Teste *Allium cepa*; verificar os possíveis efeitos citotóxicos e mutagênicos do extrato aquoso de folhas frescas de *I. asarifolia*, através da frequência de micronúcleos e células binucleadas, identificar a Dose Letal Mediana (DL<sub>50</sub>) e avaliar o screening hipocrático comportamental em camundongos swiss (*Mus musculus*).

## METODOLOGIA

**Coleta das Amostras** - As amostras de folhas de *I. asarifolia* foram coletadas no município de Angicos, na fazenda Vista Bela, durante a estação seca de 2014. A identificação botânica foi obtida no herbário Dárdano de Andrade-Lima da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), sob o código 14524. O material foi acondicionado à temperatura ambiente em sacos plásticos e transportado para armazenamento no Laboratório de Genética e Evolução (UFERSA).

**Obtenção dos extratos** - O extrato aquoso do material vegetal seco foi obtido conforme Torres (2006) com modificações, onde as folhas frescas foram selecionadas, desidratadas em bancada ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e trituradas em liquidificador até formação de pó fino. O extrato final foi obtido pela adição de água destilada, descanso por 24 horas, filtração em tecido organza e centrifugação (2000 rpm, cinco minutos). Para o extrato aquoso das folhas frescas, 100 g de folhas foram lavadas e homogeneizadas em 1000 mL de água destilada por 10 minutos, seguido de filtração em tecido organza e centrifugação (30 minutos; 2000 rpm).

**Avaliação de toxicidade vegetal** - A avaliação de toxicidade das raízes dos bulbos de *Allium cepa* a partir do extrato seco e do extrato fresco das folhas de *Ipomoea asarifolia* foi realizada conforme Fiskesjo (1988), com algumas modificações. Os bulbos foram obtidos comercialmente em supermercados na cidade de Mossoró-RN e armazenadas em local livre de umidade e luz, lavados para retirada de impurezas em água corrente por 1 hora, seguido de remoção das raízes velhas. Foram colocados em recipientes plásticos com capacidade para 50 ml de extrato. Os bulbos foram distribuídos em grupos com diferentes concentrações do extrato (5 mg/L, 50 mg/L e 300 mg/L), e controle negativo (água destilada), com cinco réplicas por tratamento. Ao final do teste (72 h) foi realizada a medição do comprimento das três maiores raízes de cada bulbo da cebola utilizando-se de um paquímetro digital. O cálculo da Inibição Relativa (IR) do crescimento foi realizado através da equação  $IR = 100 - (ICR * 100)$ , onde ICR é o Índice de Crescimento Relativo, obtido pela equação  $ICR = CRA/CRC$ , onde, CRA é o Comprimento da Radícula na Amostra e CRC é o Comprimento da Radícula no Controle Negativo. (IGANCI et al., 2006).

A citotoxicidade foi determinada através da avaliação do índice mitótico de células meristemáticas das raízes obtidas dos bulbos de cebola expostas a diferentes concentrações do extrato de folhas secas (EAS) e frescas (EAF). As radículas dos bulbos foram coletadas e fixadas em Carnoy (3:1, álcool etílico:ácido acético) por 24 horas, e em seguida foi realizado o

esmagamento, coloração e montagem das lâminas (GUERRA; SOUZA, 2002). A análise foi realizada por teste cego de 1000 células por bulbo. O índice mitótico (IM) foi avaliado conforme KUMARI, MUKHERJEE e CHANDRASEKARAN (2009), e o valor limite de citotoxicidade (VLC) conforme MIGID, AZAD e IBRAHIM (2007).

**Avaliação de toxicidade animal** - Para os estudos com animais foram utilizados 54 camundongos da linhagem Swiss (*Mus musculus*) com peso entre 25-50 g, subdivididos entre machos e fêmeas, 27 exemplares de cada. Os animais foram obtidos do biotério da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e mantidos no biotério do laboratório de Farmacognosia e Farmacologia da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) em caixas de polipropileno, com temperatura controlada ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e ciclo claro/escuro natural, além de alimentação com ração padrão e água mineral disponível à vontade no período de adaptação (94 horas) e de experimentação.

Os preparativos para o período pré-experimento seguiram Lucio (2000). O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi Árido (UFERSA) (Nº Parecer 27/2014). Os animais foram tratados conforme os princípios definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e em conformidade aos preceitos da legislação brasileira (Lei Arouca - Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008).

A dose letal mediana (DL<sub>50</sub>) foi obtida conforme *Acute Toxic Class Method* (OECD, 2001) pelo teste de dose aguda tóxica (Guideline 423), utilizando-se cinco níveis de dose (0, 5, 50, 300 e 600 mg/kg de extrato) com seis animais (três machos e três fêmeas), cada um, totalizando 30 camundongos.

**Avaliação mutagênica** – Nesta análise, o desenho experimental foi constituído de quatro grupos (controle negativo “solução salina a 0,9% por 10 ml/Kg”, e três doses do extrato: 5, 50 e 400 mg/kg com seis animais cada um, num total de 24 animais. Foram preparados esfregaços de material da medula óssea em lâminas de microscopia, que foram fixadas com metanol e corados com Giemsa, conforme técnica de Schmid (1976), modificada por Zambrano et al. (1982). Em seguida foi realizada a análise em microscópio ótico e contagem em teste cego de 2000 eritrócitos por animal.

**Análise Comportamental** - Para realização do screening hipocrático os animais foram observados nos períodos pós-aplicação, por 24 horas, 48 horas e diariamente até o 14º dia, para

quantificar os efeitos dos seguintes parâmetros: a) Atividade geral; b) Estado consciente/disposição; c) Atividade e coordenação do sistema motor e tônus muscular; d) Reflexos; e) Atividade do sistema nervoso central (OECD, 2001).

**Análises estatísticas** - os dados de crescimento de raízes foram obtidos através da comparação das medidas das raízes das amostras com o controle negativo pela Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). Enquanto que, para o índice mitótico foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ). Para avaliação da dose letal mediana ( $DL_{50}$ ), foi utilizada a análise de regressão linear segundo Litchfield e Wilcoxon (1949). Para o teste do micronúcleo e células binucleadas foi realizada a comparação entre a frequência de micronúcleos dos diferentes tratamentos pela Análise de Variância (ANOVA)  $p < 0,05$  e posterior aplicação do teste Kruskal-Wallis e Dunnet. Todas as análises utilizaram o software R 3.2.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de toxicidade analisado pelo teste de inibição do crescimento de raízes nas diferentes concentrações dos extratos aquosos de folhas secas e de frescas indicou que não houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os extratos e o controle negativo. Entretanto, quando analisado a inibição relativa foi observado que os extratos de folhas frescas nas concentrações de 5 mg/L e 300 mg/L, apresentaram um antagônico efeito estimulante no crescimento de raízes, o que pode ser indicativo de processo de formação de tumor, enquanto que o de folhas secas apresentou inibição em todas as concentrações (Tabela 1).

**Tabela 1.** Comprimento Médio e Inibição relativa de raiz de *Allium cepa* L. expostas ao controle negativo e diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas secas (EFS) e frescas (EFF) de *Ipomoea asarifolia*.

Concentração (mg/L)	Comprimento Médio Raiz (mm)		Inibição Relativa (IR)	
	EFS	EFF	EFS	EFF
Controle negativo	26,9 ± 15,3 <sup>ns</sup>	7,9 ± 10,15 <sup>ns</sup>	100	100
5	16,2 ± 14,3 <sup>ns</sup>	12,5 ± 13,7 <sup>ns</sup>	39.7	-59.4
50	22,5 ± 16,0 <sup>ns</sup>	2,3 ± 2,95 <sup>ns</sup>	16.3	71
300	18,4 ± 11,0 <sup>ns</sup>	8,9 ± 7,68 <sup>ns</sup>	31.4	-13.1

Valores expressos em média ± desvio padrão. Análise de Variância (ANOVA) ( $p < 0,05$ ) seguida do teste de Dunnett. ns = não significativa. **Fonte:** o autor

Para o ensaio de citotoxicidade foi avaliado o índice mitótico (IM) de células da raiz de bulbos de *A. cepa* com os extratos aquosos de folhas secas e frescas apresentou resultados não significativos para os extratos ( $p < 0,05$ ), revelando que as diferentes concentrações não alteraram o processo de divisão celular, e que não houve efeito letal em nenhum tipo de extrato

(EFS e EFF) em raízes de *Allium cepa*. Entretanto, foi demonstrado efeito subletal em bulbos expostos ao extrato de folhas secas nas concentrações de 5 mg/L e 300 mg/L Tabela 2. Para a avaliação dos Valores Limites de Citotoxicidade, os percentuais abaixo de 50% denotam efeito subletal e inferiores a 22% letal (MIGID; AZAB, 2007).

**Tabela 2.** Índice Mitótico e Valor Limite de Citotoxicidade de células de raiz de *Allium cepa* após exposição ao extrato aquoso de folhas secas (EFS) e frescas (EFF) de *Ipomoea asarifolia*.

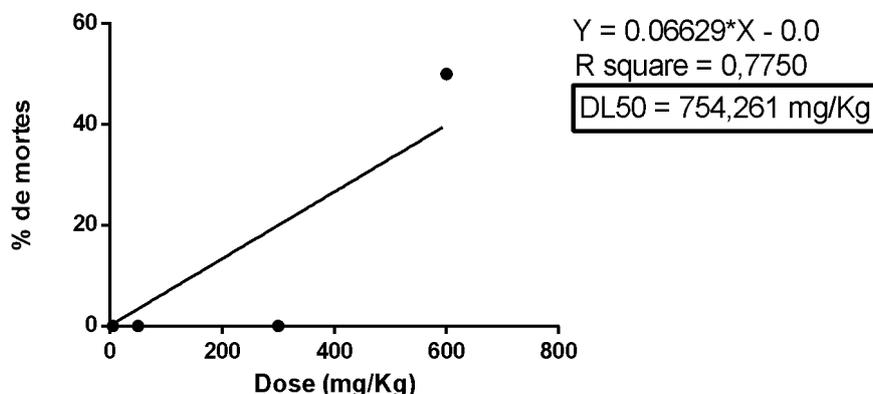
Tratamento	IM (%)	Células por fase de Divisão Celular				VLC (%)
		Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	
Controle negativo	2,35 ± 0,68 <sup>ns</sup>	6,5 ± 2,12	8,0 ± 1,41	5,5 ± 3,54	3,0 ± 2,83	-
EFS 5 mg/L	1,40 ± 0,64 <sup>ns</sup>	7,75 ± 9,9	0,50 ± 0,71	0,5 ± 0,71	0,5 ± 0,71	44,3 <sup>es</sup>
50 mg/L	2,14 ± 1,68 <sup>ns</sup>	7,50 ± 4,95	5,5 ± 4,95	6,0 ± 8,49	5,5 ± 6,36	91
300 mg/L	0,90 ± 1,04 <sup>ns</sup>	5,0 ± 1,41	4,5 ± 4,94	4,5 ± 2,12	4,5 ± 3,53	38,3 <sup>es</sup>
Controle negativo	1,9 ± 0 <sup>ns</sup>	1,5 ± 0,71	3,5 ± 2,12	1,5 ± 0,71	3,0 ± 1,41	-
EFF 5 mg/L	2,60 ± 0,75 <sup>ns</sup>	8,0 ± 2,83	5,5 ± 3,54	10,5 ± 3,54	5,5 ± 2,12	136,8
50 mg/L	2,05 ± 0,78 <sup>ns</sup>	5,5 ± 4,95	3,5 ± 0,71	2 ± 1,41	1 ± 1,41	107,8
300 mg/L	2,20 ± 0,36 <sup>ns</sup>	8,5 ± 0,70	6 ± 1,41	4 ± 2,82	3 ± 1,41	115,7

IM (%): índice mitótico; VLC: Valor Limite de Citotoxicidade; ns = não significante, es = efeito subletal. **Fonte:** o autor

Em contato com produtores da região em conversas informais os mesmos indicam que se forem produzidos fenos das folhas secas de salsa, ele pode ser servido aos animais de produção, os resultados obtidos neste trabalho com camundongos mostraram-se contrários a esta informação pelo efeito subletal observado.

Em relação ao teste de toxicidade aguda foram observadas mortes apenas na concentração de 600 mg/Kg com o extrato de folhas frescas e pela regressão linear ( $R^2 = 0,7750$ ,  $y = 0,06629 * X - 0,0$ ,  $n = 4$ ) foi determinado o valor da  $DL_{50}$  como 754,26 mg/Kg (Figura 1).

**Figura 1.** Dose letal mediana de extrato aquoso de folhas frescas de *I. asarifolia* administrado intraperitonealmente a camundongos nas concentrações 0, 5, 50, 300 e 600 mg/Kg.



Fonte: o autor

Não foi observado qualquer tipo de influência do gênero (macho/fêmea) dos camundongos sobre a toxicidade dos diferentes tratamentos de extrato aquoso fresco de *Ipomoea asarifolia*. Os dados encontrados neste trabalho se aproximam dos resultados obtidos por Lawal (2010), que apresentou DL<sub>50</sub> no valor de 774.6 mg/Kg utilizando extrato aquoso de *I. asarifolia*, obtido da parte aérea de plantas coletadas na Nigéria também utilizando camundongos como bioindicador. De acordo com o guia 423 da OECD (2001) o extrato aquoso de *I. asarifolia* possui toxicidade média (substância com DL<sub>50</sub> maior que 300 mg/Kg e menor que 2000 mg/Kg) e pertence a classe 4.

Quanto a análise de micronúcleos e células binucleadas foi observado que não houve não houve diferenças estatísticas significativas em nenhuma concentração em relação ao controle negativo, assim como não houve influência do gênero (macho/fêmea) o que implica que o extrato aquoso de folhas frescas de *Ipomoea asarifolia* não apresentou efeitos genotóxicos nos camundongos estudados (Tabela 3).

**Tabela 3.** Média de micronúcleos e células binucleadas em células de camundongos expostos ao extrato aquoso de folhas frescas de *Ipomoea asarifolia* em diferentes concentrações.

Tratamento	Média de Micronúcleos			Média de Células Binucleadas		
	Macho	Fêmea	Total	Macho	Fêmea	Total
Controle negativo	2,5 ± 2,1 <sup>ns</sup>	3,5 ± 1,4 <sup>ns</sup>	3 ± 1,8	3,3 ± 3,0 <sup>ns</sup>	4,3 ± 3,0 <sup>ns</sup>	3,8 ± 2,9
5	2,2 ± 2,4 <sup>ns</sup>	1,75 ± 1,2 <sup>ns</sup>	2,2 ± 1,8	3,7 ± 2,7 <sup>ns</sup>	7,1 ± 4,2 <sup>ns</sup>	5,4 ± 3,8
50	3,8 ± 2,2 <sup>ns</sup>	3,5 ± 1,2 <sup>ns</sup>	3,6 ± 2,4	2,7 ± 1,5 <sup>ns</sup>	4,8 ± 4,4 <sup>ns</sup>	3,8 ± 3,4
400	2,8 ± 1,7 <sup>ns</sup>	2,6 ± 1,0 <sup>ns</sup>	2,7 ± 1,4	5,3 ± 2,1 <sup>ns</sup>	6,3 ± 5,9 <sup>ns</sup>	5,8 ± 4,2

ns = não significante. **Fonte:** o autor

A avaliação do screening hipocrático não demonstrou alterações comportamentais nos camundongos submetidos às concentrações de 5 mg/Kg e 50 mg/Kg. No entanto, para a concentração de 300 mg/Kg houve alterações no parâmetro – Sistema Nervoso Autônomo, cujos indivíduos apresentaram dificuldade nos movimentos, com descontrole corporal. Já nos indivíduos expostos a concentração de 600 mg/Kg, houve alterações nos parâmetros: Atividade geral e estado consciente disposição, onde os animais, de maneira geral, apresentaram-se mais agitados e sensíveis ao toque. Entretanto, não foram identificados os sintomas da síndrome tremorgênica. Além disso, foi detectada a presença de lesões na região abdominal, fruto de processos possíveis inflamatórios no local de aplicação.

Os resultados deste trabalho concordam com Lopes et al. (2014) que observou que camundongos adultos que consumiram rações contendo 20% e 30% de folhas de *I. asarifolia*

apresentaram alterações do equilíbrio e coordenação motora, mas não foram observados tremores musculares, que é o principal sinal clínico dos ruminantes intoxicados pela planta.

Nosso trabalho evidencia a importância do estabelecimento de um modelo animal que responda à intoxicação de plantas e reproduza as condições observadas nos ruminantes.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos aquosos de folhas secas (EFS) e frescas (EFF) de *I. asarifolia* não apresentaram efeitos tóxicos e citotóxicos, porém desenvolveram efeitos alelopáticos e subletais nos crescimentos de raízes. A Dose Letal Mediana (DL<sub>50</sub>) foi definida para extrato aquoso de folhas frescas em camundongos Swiss, sugerindo doses seguras. Não há registro de diferença de efeito tóxico sobre os gêneros.

O extrato aquoso intraperitoneal de folhas frescas não provoca efeitos mutagênicos e citotóxicos em eritrócitos de camundongos. Estudos posteriores são necessários para verificar o efeito tóxico a partir de outras condições de extração.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J. A. S. et al. Intoxicação experimental por *Ipomoea asarifolia* (*Convolvulaceae*) em caprinos e ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 28(10):488-494, outubro, 2008.

ARRAES, A. I. O.; LONGHIN, S. R. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, N.14; p.1958. 2012.

ARUOMA, O I. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutant. Res.**, v. 523, p. 9-20, 2003.

BARBOSA, J.D. et al. Intoxicação experimental e natural por *Ipomoea asarifolia* (*Convolvulaceae*) em búfalos e outros ruminantes. Rio de Janeiro: **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.231-234, 2005.

CUCHIARA, C.C.; BORGES, C.S.; BOBROWSKI, V.L. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, João Pessoa, v.6, n.1, p.33-38, mar. 2012.

CUNHA, L. C. et al. Avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* Aubl (*Tiliaceae*), em camundongos e ratos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** 34(3):357-362. 2013.

FISKESJO, G. The *Allium* test: An alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions. **Mutat. Res.**, v. 197, p. 243-269, 1988.

GUEDES, K.M.R. et al. Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. Rio de Janeiro: **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.1, p.29-38, 2007.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar Cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana**. São Paulo: Funpec, 2002. 131p.

IGANCI, J. R. V. et al. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.73, n.1, p.79-82, jan./mar., 2006.

KILL, L. H.; RANGA, N. Ecologia da polinização de *Ipomoea asarifolia* (ders). Roem & schult. (*Convolvulaceae*) na região semi-árida de Pernambuco. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 17, n.3, p. 355-362. 2003.

KUMARI, M.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. **Science of the Total Environment**, n.407, p.5243–5246, 2009.

LAWAL, U. et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of water extract from *Ipomoea asarifolia* Desr (*Convolvulaceae*). **African Journal of Biotechnology**. Vol. 9(51), pp. 8877-8880. 2010.

LATHER, A. et al. World wide potential of plants causing teratogenicity an overview. **Spatula DD**. 1(2):101-6. 2011.

LITCHFIELD, J. T.; WILCOXON, F. Simple method of fitting dose-effect curve. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 95, p. 99-113, 1949.

LOPES, J. R. G. et al. Administração de diferentes concentrações de folhas de *Ipomoea asarifolia* na ração de camundongos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.5, p. 872-877, mai, 2014.

LÚCIO, E. M. R. A; ROSALEN, P. L.; SHARAPIN, N.; SOUZA BRITO, A. R. M. Avaliação toxicológica aguda e screening hipocrático da epilospilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. **Rev Bras Farmacogn**, v. 9, n. 10, p. 23-25, 2000.

MEDEIROS, R.M.T. et al. Tremorgenic syndrome in goats caused by *Ipomoea asarifolia* in northeastern Brazil. **Toxicon**. V. 41, p. 933-935, 2003.

MIGID, H. M. A.; AZAB, Y. A.; IBRAHIM, W. M. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.6, n.1, p.57-64. 2007.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development; 2001.

OUEDRAOGO, M. et al. Review of current and "omics" methods for assessing the toxicity (genotoxicity, teratogenicity and nephrotoxicity) of herbal medicines and mushrooms. **J. Ethnopharmacol**. 140(3):492-512. 2012.

ROSS, C. A.; MARGOLIS, R. L. Neurogenetics: insight into degenerative diseases and approaches to schizophrenia. **Clin. Neurosc. Res.**, v. 5, p. 3-14, 2005.

SCHMID, W. THE MICRONUCLEUS TEST FOR CYTOGENETIC ANALYSIS. IN: **CHEMICAL MUTAGENS. PRINCIPLES AND METHODS FOR THEIR DETECTION**. NEW YORK: ED. A. HOLLAENDER PLENUM PRESS, 1976. P. 31-53.

TORRES, A. L.; BOIÇA, J. R. A. L.; MANFRÉ, C. A. M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v. 65, p. 447-457, 2006.

ZAMBRANO, M. A.; TARGA, H. J.; RABELLO-GAY, M. N. Physiological saline solutions as a useful tool in micronucleus and metaphase slide preparations. **Stain Technology**, v. 57, p. 48-49, 1982.

# CAPÍTULO 20

## ESTUDO DO POTENCIAL CITOTÓXICO, GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DO EXTRATO AQUOSO DE *Tabebuia aurea* EM CÉLULAS DE *Allium cepa*

DOI: 10.47402/ed.ep.c202173219585

**Cecília Ruth Fernandes da Silva**, Licenciada em Ciências Biológicas, UFCG  
**Naama Jessica de Assis Melo**, Doutora em Fitotecnia, Assistente de Laboratório, UFERSA  
**Edigleyce de Lima Costa Menezes**, Mestra em Produção Animal, Técnica de Nível Superior, UERN

**Eliezer Fernandes da Silva Filho**, Mestre em Produção Animal, Professor de biologia Ceamo

**José Carlos da Silveira Pereira**, Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular, Professor, FACENE/RN

**Matheus Medeiros Nunes**, Acadêmico em ciências biológicas, UFCG

**Francisca Vitória Amaral Nóbrega**, Especialista em Gestão Ambiental, UNIFIP

**Marcos Antonio Nobrega de Sousa**, Doutor em genética, Professor Associado, UFCG

### RESUMO

Agentes químicos produzidos em algumas plantas podem provocar alterações no desenvolvimento de organismos e ensaios laboratoriais podem demonstrar os resultados destas interações para estudos de alelopatia e toxicidade. Objetivou-se identificar a influência do extrato aquoso bruto da espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso), popularmente conhecida como Craibeira, sobre o desenvolvimento de sementes de *Allium cepa*. O bioensaio foi conduzido em ambiente controlado a  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas com luz artificial, com extrato aquoso obtido da casca seca nas concentrações de 0,4; 0,8 e 4%, água destilada como controle negativo, colchicina como controle positivo e um teste de antimutagenicidade com colchicina mais o extrato na concentração de 4%. Para o teste de germinação, que avalia efeito alelopático, foram realizados seis tratamentos contendo três réplicas, e cada réplica com 25 sementes. Para determinação da citotoxicidade, através do índice mitótico (IM) foram contadas 3.000 células por tratamento. O bioensaio realizado demonstrou que o extrato vegetal interferiu sobre a germinação, crescimento da radícula e sobre a divisão celular em células meristemáticas radiculares de *A. cepa*. Apresentou efeito tóxico e citotóxico. Portanto, o consumo para uso medicinal da casca dessa planta, deve ser evitado nas concentrações apresentadas neste trabalho.

**PALAVRAS-CHAVE:** Toxicidade. Citotoxicidade. Índice mitótico. Planta medicinal. Alelopatia.

### INTRODUÇÃO

O Nordeste do Brasil tem a maior parte de seu território revestido por uma vegetação xerófila, de fisionomia e florística variadas, que tem mantido desde o tempo do período colonial a antiga denominação indígena de "caatinga". O clima da caatinga tem como característica o

baixo índice de pluviosidade e a distribuição irregular das chuvas o que torna sua vegetação xerófila e caducifólias, ou seja, as plantas perdem suas folhas em estresse hídrico como maneira de reduzir o gasto de água.

A Caatinga compõe o contingente de 125 famílias, 692 gêneros e 2151 espécies, as quais têm sua utilização comercial, medicinal e paisagística. O gênero *Tabebuia* corresponde a cerca de 74 espécies e pertence à família das Bignoniaceae. A espécie *Tabebuia aurea*, mais conhecida como: Craibeira, Craiba, Ipê-do-cerrado e Paratudo, tem distribuição pela Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal. O gênero *Tabebuia* tem demonstrado o seu emprego no tratamento de diversas afecções como, câncer, malária, tuberculose, congestão nasal, antimicrobiano e no tratamento de feridas e picadas de cobras.

A utilização de produtos naturais para fins terapêuticos é um costume difundido na civilização humana e transferido de geração em geração. Após a revolução industrial e suas inovações tecnológicas, os produtos naturais foram sendo substituídos por sintéticos, com a afirmação dos mesmos possuírem ação confiável e eficaz.

No entanto, cerca de 25% das drogas prescritas em todo o mundo provêm de plantas. Das 252 drogas consideradas básicas e essenciais pela World Health Organization (OMS), 11% são exclusivamente de origem vegetal e um número significativo são drogas sintéticas obtidas de precursores naturais (RATES, 2001).

O presente trabalho teve como objetivo de avaliar, a citotoxicidade, genotoxicidade e antimutagenicidade do extrato aquoso da casca de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) em diferentes concentrações por meio do teste *Allium cepa* e análise do índice mitótico (IM).

## REFERENCIAL TEÓRICO

### Família Bignoniaceae

A família Bignoniaceae apresenta 120 gêneros e cerca de 800 espécies, ocorrendo principalmente nos neotrópicos. No Brasil, ocorrem 32 gêneros e cerca de 350 espécies, sendo o país considerado centro de diversificação da família (CHAGAS JUNIOR; CARVALHO; MANSANARES, 2010).

### *Tabebuia aurea*

O gênero *Tabebuia* corresponde cerca de 74 espécies e pertence à família das Bignoniaceae, a espécie *Tabebuia aurea*, mais conhecida como Craibeira, Craiba, Ipê-do-

cerrado, Paratudo (LORENZI, 2008), tem como distribuição de domínio fitogeográficos a Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (REFLORA, 2017).

*Tabebuia aurea* é uma árvore de 5-10 metros, decídua durante o inverno, nativa do Cerrado, Caatinga e do Pantanal Mato-Grossense, é florífera e ornamental, suas flores são andróginas e grandes, é ocasionalmente cultivada na arborização urbana e no paisagismo (LORENZI, 2008). A madeira é utilizada para fabricação de cabos para ferramentas e moenda por ser bastante flexível.

Os estudos sobre as atividades medicinais de *Tabebuia aurea* são escassos, sendo encontrado apenas um sobre atividade antifúngica, anti-inflamatória, antimetabólicas e anti-hemorragicas (SILVA; PAULA; ESPINDOLA, 2009). Entretanto, sua casca e folhas são muito utilizadas na medicina, sua entrecasca é útil para o tratamento de gripes e resfriados e pode ser utilizada na forma de xaropes ou infusões. Na Argentina, essa espécie é utilizada como abortiva e suas folhas são consideradas purgativas (LORENZI, 2008).

#### Germinação

Ao fim do processo de embriogênese, o embrião passa por diversas mudanças que o tornam apto a resistir às mais diversas condições ambientais, e a períodos de dormência. É na embriogênese onde grupos de células como os meristemas apicais são formados em pontas de raízes e em extremidades aéreas as quais promovem a formação de tecidos e a arquitetura básica das plantas (morfogênese, organogênese e histogênese) (TAIZ; ZEIGER, 2013).

É na germinação onde o embrião quebra seu estado de dormência, e por possuir reservas armazenadas, o mesmo entra em crescimento vegetativo, onde, o frio, calor, luz e disponibilidade hídrica serão alguns fatores que poderão favorecer a germinação (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A disponibilidade hídrica em excesso ou sua falta causam sérios problemas à germinação. Em excesso, a água causa uma diminuição do período necessário para a reorganização das membranas celulares, ocorrendo assim, uma liberação expressiva de solutos que passam a agir como substrato para microrganismos do ambiente (PESKE; DELOUCHE, 1985). Na carência hídrica ocorre o retardamento da germinação, possibilitando o favorecimento da ação de patógenos, devido ao maior tempo de exposição (MARCOS FILHO, 1986).

## Toxicidade e Citotoxicidade

Para a análise de toxicidade e citotoxicidade em plantas medicinais o teste *Allium cepa* é o mais aceito, pois suas raízes entram em contato direto com a substância testada, permitindo a avaliação das diferentes concentrações. O teste de *Allium cepa* também fornece indicativos de toxicidade através da taxa de germinação e de crescimento de raízes.

Por ser um teste fácil de ser realizado, ele é amplamente utilizado em vários laboratórios no mundo que trabalham com genética toxicológica, na verificação do índice mitótico e do índice de replicação, além de ser considerado importante indicador de contaminação ambiental (FISKESJO, 1985; GADANO et al., 2002). O teste permite analisar alterações macroscópicas e microscópicas da raiz, como aberrações cromossômicas, índice mitótico (IM) e micronúcleos (MN) (LONGHIN, 2008).

A citotoxicidade é o efeito decorrente das ações de substâncias tóxicas à célula, pois a mesma sofre danos em sua morfologia podendo levar a lise celular. Há dois métodos de determinar a citotoxicidade, que são eles, os métodos quantitativo e qualitativo. No método quantitativo é realizada a medida de morte celular, proliferação ou formação de colônias de células, enquanto o método qualitativo se verifica o estado da célula. Um aumento na divisão celular ou sua diminuição, podem ser prejudiciais para as células, como, a proliferação celular desordenada, formando tecidos tumorais, ou a interferência no desenvolvimento do organismo, quando o índice mitótico diminui (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Em experimentos que necessitam analisar a citotoxicidade de substâncias na divisão celular, é comumente utilizado, o índice mitótico (IM), o qual se trata da verificação de células em divisão pelo número total de células de determinado tecido, logo esse índice consegue determinar a citotoxicidade de agentes mutagênicos, (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; LEME; MARIN-MORALES, 2009; SETH et al., 2008). O IM é obtido pela equação  $IM = (m/T) \times 100$  (PIRES et al., 2001).

## Mutagenicidade e Genotoxicidade

A mutagenicidade, em si, causa danos celulares que podem ser induzidos por agentes químicos, físicos ou biológicos, e eles afetam processos celulares vitais como a duplicação, transcrição gênica e alterações cromossômicas, levando a consequências, como o desenvolvimento de processos cancerosos e até a morte celular (COSTA; MENK, 2000).

As mutações podem ser espontâneas ou induzidas e são causadas pelas ações de agentes mutagênicos. As mutações espontâneas são menos frequentes do que as induzidas, no entanto, seu papel evolutivo é mais significativo. A mutação em conjunto com a recombinação é o mecanismo para a variação genética, porém, todo mecanismo tem seus defeitos, logo, o DNA tem sua própria segurança para que falhas determinantes sejam corrigidas a tempo. Alguns erros conseguem ser repassados hereditariamente e podem se expressar de forma positiva ou negativa conforme a sua função no organismo do indivíduo (GRIFFITHS et al., 2012).

As plantas medicinais recebem essa denominação por possuir substâncias que apresentam ação farmacológica, porém, na grande maioria das vezes as plantas que são utilizadas por diversas comunidades, não possuem uma análise laboratorial afirmando a existências de substâncias fitoterápicas e se as mesmas estão atuando ou não no organismo consumidor (FURLAN, 1998).

O consumo de chás das mais diversas plantas, sem um determinado padrão de análises de seus componentes ou a determinação da concentração ideal para consumo do mesmo, pode levar o consumidor a desenvolver uma série de danos imperceptíveis e de longo prazo no seu organismo (RIBEIRO et al., 2003).

Efeitos genéticos são acarretados por substâncias tóxicas presentes nos chás e extratos de plantas. O efeito mutagênico apresenta como resultado a formação de mutações decorrentes das ações dessas toxinas encontradas na planta, porém, essas mesmas substâncias poderiam acarretar um efeito inverso, (efeito antimutagênico), não induzindo mutações (RIBEIRO et al., 2003).

Já a genotoxicidade analisa a influência de substâncias tóxicas e suas ações no DNA de um organismo. O efeito genotóxico e seu potencial, no geral, são determinados pela presença de anomalias cromossômicas estruturais ou numéricas (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Na genotoxicidade, ocorrem lesões no material genético, devido a substâncias conhecidas como genotóxicas (COSTA; MENK, 2000).

Segundo Bagatini, Silva, Tedesco (2007), os testes de citotoxicidade/genotoxicidade realizados pelo sistema teste de *Allium cepa* baseiam-se em diversos parâmetros de análise, como por exemplo padrões nucleares atípicos.

O aparecimento de micronúcleos é a consequência da quebra cromossômica, evidenciando claramente a manifestação de distúrbios do processo mitótico. Por ter uma relação

bastante estreita com o efeito mutagênico, o efeito genotóxico acaba sendo negligenciado quanto a sua determinação. A separação da causa desses efeitos requer uma investigação minuciosa das análises, tendo em vista que o potencial genotóxico e mutagênico possuem causas semelhantes, como anomalias, micronúcleos, etc., mas com efeitos diferentes nas células.

Os agentes genotóxicos interagem quimicamente com o material genético, formando aductos, alteração oxidativa ou mesmo quebras na molécula de DNA. Na grande maioria dos casos o dano é reparado pelo próprio organismo ou a célula é eliminada. Caso essa lesão seja fixada, provocam alterações hereditárias (mutações), que podem se perpetuar nas células filhas durante o processo de replicação, neste caso, o agente é denominado mutagênico (OBE et al., 2002; WHITE; RASMUSSEN 1998).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### Coleta do material

Para este trabalho, utilizou-se cascas do caule de *Tabebuia aurea*, coletadas no Sítio Exú, localizado nos domínios da cidade de São Mamede (Lat.: 37° 03' 50.1" W, Long.: 09° 52' 58.3" S, Alt.: 277 m). Esta área está inserida na mesorregião do Seridó ocidental do Estado da Paraíba, Brasil e possui 40 hm<sup>2</sup> de mata de Caatinga, sendo utilizada principalmente para a criação de rebanhos.

A coleta aconteceu no mês de abril do ano de 2017 e a identificação da espécie foi realizada através de guias de campo e conferida posteriormente, por especialistas do Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR). Um espécime foi depositado como exsicata no Herbário do CSTR, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), e tombada sob o número 6758 CSTR.

As cascas frescas foram secas à temperatura ambiente por uma semana e em seguida foram trituradas no moinho do laboratório de zootecnia da UFCG, para a obtenção de pó necessário para a preparação do extrato aquoso. O pó foi peneirado em uma peneira artesanal com tecido de organza, até obter-se um pó fino e uniforme.

### Preparação do extrato

Foram realizadas três soluções em diferentes concentrações de *Tabebuia aurea* com água destilada. As soluções foram preparadas de acordo com Colacite (2015), 4 g/1000 mL (0,4%);

4 g/500 mL (0,8%); e 4 g/100 mL (4%). Foram utilizados nos experimentos com sementes de *Allium cepa* além destas soluções testes de *Tabebuia aurea*, o controle negativo com água destilada, controle positivo com colchicina a 0,5 g/100 mL (0,5%) e controle antimutagênico (mesma quantidade (5 ml) de colchicina e extrato aquoso na concentração de 4%).

#### Teste de germinação

As sementes de *A. cepa* foram adquiridas em centro comercial especializado em produtos agrícolas, na cidade de Campina Grande, Paraíba. Para este estudo, foram utilizadas sementes de *A. cepa* da variedade Vale Ouro IPA-11, lote com germinabilidade de 92% e pureza de 99%.

Para higienização e quebra de dormência das sementes foi utilizada uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1%. As sementes foram imersas nessa solução e agitadas cuidadosamente durante 5 minutos. Em seguida, foram enxaguadas 3 vezes com água destilada, e secas com papel filtro esterilizado (BRASIL, 2009).

O teste de germinação foi realizado em placas de Petri estéreis, sobre papel filtro umedecido com os controles negativo, positivo e o extrato aquoso de *T. aurea*, nas três concentrações (0,4; 0,8 e 4%). Em cada placa foram colocados 5 mL de cada tratamento e em seguida elas foram lacradas com papel filme.

As placas permaneceram sob condições controladas de temperatura e luminosidade. A temperatura foi ajustada para  $25 \pm 2$  °C, considerada uma das temperaturas ótimas para o crescimento de sementes de cebola da variedade IPA-11, e o fotoperíodo de 12 horas com luz artificial.

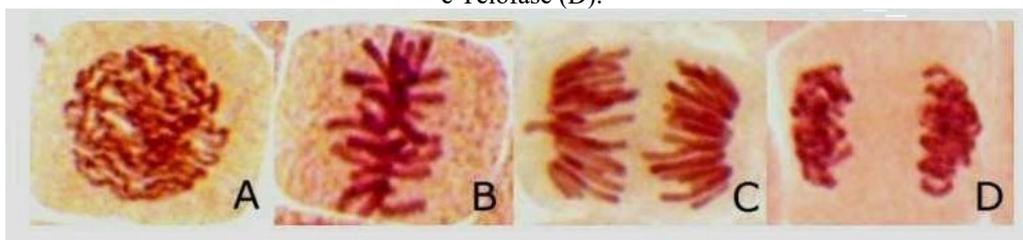
O teste de germinação foi realizado em triplicata, com 25 sementes por placa, ou seja, 18 placas para 6 tratamentos, durante um total de cinco dias, com o tempo de germinação sendo analisado com 24, 48, 72, 90 e 120 horas. O ensaio foi realizado no Laboratório de Citogenética e Biologia Molecular, no Campus de Patos da UFCG.

Durante todo o período analisado de germinação, as sementes germinadas foram contabilizadas. Para a obtenção do índice de germinação (IG) e a índice de velocidade de germinação (IVG), foi utilizado o programa estatístico Germinquant 1.0, sendo consideradas germinadas as sementes que apresentaram radícula com no mínimo 50% do tamanho da semente (FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

## Análise do índice mitótico

Para a análise de índice mitótico (IM) foi empregado a técnica de esmagamento para a observação de células em processo de divisão (GUERRA; SOUZA, 2002). Figura 1. As maiores raízes foram coletadas (três a quatro raízes por réplica) e colocadas em solução fixadora de Carnoy (etanol:ácido acético – 3:1) durante sete dias.

**Figura 1** – Estágio da mitose em células meristemáticas de *Allium cepa*: Prófase (A), Metáfase (B), Anáfase (C) e Telófase (D).



Fonte – GOOGLE, (2017)

## Preparo das lâminas

As raízes foram retiradas do fixador, lavadas em água destilada (3 banhos), hidrolisadas em HCl 1N a 60 °C por 10 minutos e lavadas mais uma vez em água destilada. Em seguida, com auxílio de uma pinça e de uma lâmina de bisturi, a coifa (porção apical da raiz) foi retirada e colocada sob uma lâmina. Adicionou-se uma gota deorceína acética a 2% e corada durante 5 minutos. A lamínula foi então colocada sobre a lâmina e foi realizado o squash (esmagamento) com o dedo polegar, com suave pressão (GUERRA; SOUZA, 2002).

Foram avaliadas 1000 células por réplica, totalizando 3.000 células por tratamento. As lâminas foram avaliadas, usando microscópio óptico com aumento de 400x.

## Análise estatística

Para o comprimento de raiz, das sementes que germinaram, foram coletadas uma amostra de 10 raízes por tratamento. As avaliações estatísticas foram realizadas através de Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo teste de Fisher's ( $p < 0,05$ ), quanto a normalidade, foi determinada pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk ( $\alpha = 0.05$ ). Todas as análises foram realizadas com auxílio do software GraphPad Prism 7.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Germinação

Após cinco dias, a análise da porcentagem de germinação demonstrou que, o tratamento do controle negativo apresentou a maior porcentagem nominal de germinação (84%) enquanto

que o tratamento na concentração de 0,4% apresentou 53,33%, sendo a menor porcentagem entre os tratamentos com o extrato aquoso de *Tabebuia aurea*, em comparação com as demais concentrações de extrato, controle positivo e antimutagênico. Entretanto, não houveram diferenças estatísticas significativas entre os grupos quanto ao tempo médio de germinação (de cerca de três dias) e velocidade média de germinação (cerca de 0,30) (Tabela 1).

Tabela 1 – Porcentagem de germinação, tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG) de sementes de *Allium cepa* sobre influência de extrato de *Tabebuia aurea*.

Média ± DP	CN	0,4%	0,8%	4%	CP	AM
Germinação (%)	84,00 ± 12,00	53,33 ± 10,07	78,67 ± 6,11	60,67 ± 17,47	77,33 ± 8,33	53,67 ± 8,50
TMG	3,30 ± 0,36	3,24 ± 0,65	3,09 ± 0,21	3,34 ± 0,35	3,87 ± 0,07	3,19 ± 0,17
VMG	0,31 ± 0,04	0,32 ± 0,07	0,32 ± 0,02	0,30 ± 0,03	0,26 ± 0,01	0,31 ± 0,02

Fonte – FERNANDES (2017).

Através deste teste de germinação pode-se observar que o extrato de *T. aurea* influenciou a porcentagem de germinação nos extratos estudados. Portanto, os extratos apresentaram efeito alelopático considerável sob a porcentagem de germinação no teste de *Allium cepa*. Este resultado contradiz o de Ferreira, Borghetti (2004), onde os autores citam que muitas vezes o efeito alelopático não se refere ao percentual final de germinação, mas sim, sobre a velocidade de germinação.

Segundo Ferreira, Áquila (2000), a germinação é menos sensível aos aleloquímicos que o crescimento de plântula, porém, a análise experimental é muito mais simples, pois para cada semente o fenômeno é discreto, germina ou não germina. A sensibilidade de uma espécie de planta à toxicidade depende da quantidade de suas reservas alimentares (CHEUNG et al., 1989), logo, sementes maiores seriam menos sensíveis a compostos tóxicos. No entanto, no estudo realizado por Cheung et al. (1989) analisaram a sensibilidade de seis espécies de plantas com a amônia gerada da decomposição de compostos orgânicos e animais, verificaram que o pepino e o tomate mostraram-se como as plantas menos sensíveis, mesmo o tomate tendo sementes muito pequenas e com pouca reserva alimentar, como as sementes de *Allium cepa*, ao contrário do pepino e suas grandes sementes. Isso mostra que para a determinação da sensibilidade de determinada planta não é dependente apenas do seu nível de reserva alimentar mas também dos seus requisitos de crescimento e tolerância à toxicidade.

Foi realizada uma análise de variância com os dados da porcentagem de germinação, pois todos passaram no teste de normalidade (Tabela 2).

Tabela 2 – Teste de normalidade de Shapiro-Wilk (alpha=0,05).

Teste de normalidade de Shapiro-Wilk	CN	0,4%	0,8%	4%	CP	MA
Valor P	>0,9999	0,7804	0,6369	0,5542	0,4633	0,3386
Passou no teste de normalidade (alpha=0.05)?	Sim	sim	sim	sim	sim	sim

Fonte – FERNANDES (2017).

Deste modo foi possível realizar a ANOVA e observar que houve diferença significativa entre as médias. O teste da ANOVA mostra diferença geral entre os dados a um nível de significância de  $P < 0.05$ , o valor de P observado foi de 0,0142. (Tabela 3).

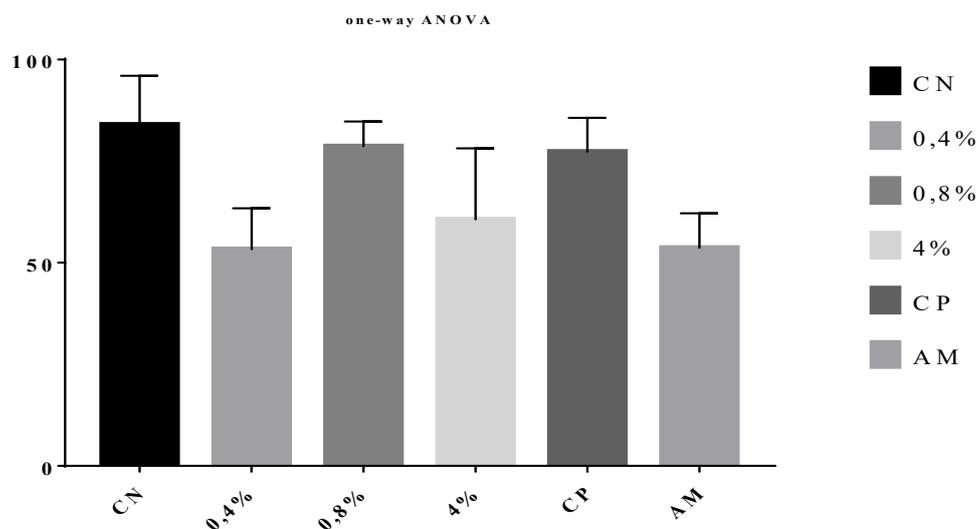
Tabela 3 – Teste de Análise de Variância (ANOVA).

Códigos	Valores
F	4,6
Valor P	0,0142
Sumário do Valor P	*
Diferenças significativas entre as médias ( $P < 0.05$ )?	sim
R square	0,66

Fonte FERNANDES, (2017).

Observou-se que a porcentagem de germinação foi maior no controle negativo (CN) do que todos os outros tratamentos. Ao comparar todas as médias dos tratamentos com a média do CN foi observado que na concentração de 0,8% houve uma maior porcentagem de germinação e na concentração (0,4%) foi a menor. Não houve uma relação dose-resposta. O extrato mostrou-se tóxico para todas concentrações. Mas na concentração de (0,8%) o pós-teste de Fisher's não indicou diferenças estatísticas significativas (Tabela 4), pois nesta concentração houve favorecimento para a germinação, portanto o efeito tóxico foi muito baixo, como mostrado na (Figura 2).

**Figura 2** – Gráfico referente a porcentagem de germinação de sementes da espécie vegetal *Allium cepa* sob influência do extrato aquoso de *Tabebuia aurea*, controle negativo (CN), controle positivo (CP) e antimutagênico (AM).



Fonte – FERNANDES, (2017).

O controle positivo não foi tão efetivo para o teste de germinação, tendo em vista que apesar de sua média ser menor do que a do controle negativo (CN), não apresentou diferenças estatísticas significativas em relação ao mesmo. A colchicina causa distúrbios no fuso mitótico e leva a poliploidização das células meristemáticas das raízes de *Allium cepa* (LEVAN, 1945). Porém, este trabalho não demonstrou ser um bom controle positivo.

O teste para antimutagenicidade (AM) mostrou-se eficaz em sua ação, pois apresentou média menor com relação a (CN) e controle positivo (CP).

O método de Fisher's compara todos os pares de média. O teste mostrou que a maioria dos dados deram diferença significativa, afirmando que os dados do experimento quando repetidos tem 95% de chance de apresentar o mesmo resultado, quando utilizados a mesma planta e suas concentrações, além de confirmar que essas diferenças são sim possíveis e que não houve interferência do desvio padrão (Tabela 4).

Tabela 4 – Teste de Fisher's (ANOVA).

Uncorrected Fisher's LSD	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Individual P Value
CN vs. 0,4%	31	11 to 50	Yes	**	0,0052
CN vs. 0,8%	5,3	-14 to 25	No	Ns	0,5646
CN vs. 4%	23	3,7 to 43	Yes	*	0,0236
CN vs. CP	6,7	-13 to 26	No	Ns	0,4733
CN vs. AM	30	11 to 50	Yes	**	0,0056
CP vs. AM	24	4 to 43	Yes	*	0,0220

Fonte – FERNANDES, (2017).

#### Análise do comprimento de radícula

Todos os valores do teste do comprimento de raízes passaram no teste de normalidade (Tabela 5).

Tabela-5. Teste de normalidade Shapiro-Wilk (alpha=0.05)

Shapiro-Wilk normality test	CN	0,4%	0,8%	4%	CP	AM
W	0,91	0,97	0,95	0,93	0,95	0,87
P value	0,3114	0,8826	0,7257	0,4059	0,6357	0,1104
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

O teste da ANOVA mostra diferença geral entre os dados a um nível de significância de  $P < 0,05$ , e nesse teste o valor de P foi de 0,0001. Conforme o valor de P foi observado que existe uma diferença estatística devido ao valor P ter sido muito abaixo de 0,05 (Tabela 6).

Tabela 6 – Teste de Análise de Variância (ANOVA).

Códigos	Valores
F	55
P value	<0,0001
P value summary	****

Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes
R square	0,84

Fonte – FERNANDES, (2017).

Segundo o teste de Fisher's as maiorias dos dados apresentaram diferença significativa, afirmando que os dados do experimento se repetidos tem 95% de chance de apresentar o mesmo resultado, se feito com a mesma planta e concentração, além de confirmar que essas diferenças são sim possíveis e que não houve interferência do desvio padrão. O único que apresentou nenhuma significância foi o CP vs AM, pois a média de ambos foi muito próxima (Tabela 7).

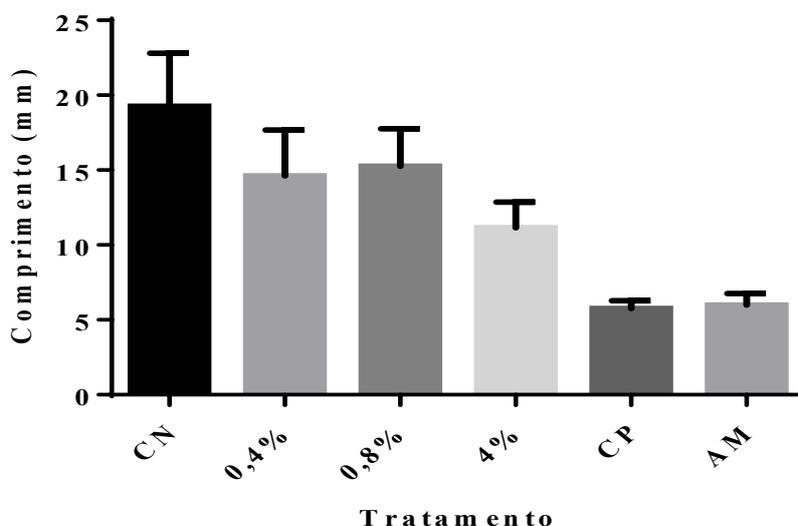
Tabela 7 – Teste de Fisher's (ANOVA).

Uncorrected Fisher's LSD	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Individual P Value
CN vs. 0,4%	4,7	2,6 to 6,7	Yes	****	<0,0001
CN vs. 0,8%	4	1,9 to 6,1	Yes	***	0,0003
CN vs. 4%	8,1	6 to 10	Yes	****	<0,0001
CN vs. CP	14	11 to 16	Yes	****	<0,0001
CN vs. AM	13	11 to 15	Yes	****	<0,0001
CP vs. AM	-0,23	-2,3 to 1,8	No	Ns	0,8248

Fonte – FERNANDES, (2017).

Conforme o gráfico, de comprimento de raízes, quando foram comparados os extratos com o CN foi possível afirmar que houve diferença estatística significativa (Tabela 6 e 7), porém não houve relação dose resposta, levando em consideração que na concentração de 0,8% foram obtidos os maiores comprimentos de raízes, lembrando que no gráfico de germinação, a concentração de 0,8% também foi a que apresentou maior índice de germinação, contudo todas as concentrações foram tóxicas para o crescimento de raiz, quando relacionadas ao controle negativo. O controle positivo (CP) e o antimutagênico (AM) quando analisados em conjunto, não obtiveram diferença significativa devido as médias serem muito próximas e, com isso, podemos afirmar que não houve ação antimutagênica no crescimento de raízes (Figura 3).

**Figura 3** – Gráfico referente ao comprimento de raiz. Controle negativo (CN), controle positivo (CP) e antimutagênico (AM).



Fonte – FERNANDES, (2017).

Um composto é considerado não tóxico, quando seu índice de germinação (IG) é superior a 80% ou os pesos das mudas da planta maiores que 90% (ERHART; BURIAN, 1997 ; ZUCCONI et al.,1981). O índice de germinação é a melhor maneira de testar a fitotoxicidade do composto para o crescimento das plantas porque os resultados são bastante diretos e confiáveis. O extrato mostrou-se tóxico para a germinação e crescimento de radícula neste presente trabalho, pois, seu (IG) foi menor que 80%, logo esse teste provou ser um parâmetro muito sensível, uma vez que combina germinação e crescimento radicular (MEUNCHANG; PANICHSAPTANA; WAEVER, 2005; WONG et al., 2001; ZUCCONI et al.,1981) (Tabela 8).

Tabela 8 – Teste de normalidade de Shapiro-Wilk (alpha=0,05).

Concentrações	Média do crescimentos das raízes (mm)	ICR	IG (%)
CN	19,27	1	100
0,40%	14,61	0,76	48,13
0,80%	15,26	0,79	74,14
4%	11,15	0,58	42,24

Concentrações	Número de sementes germinadas (SGA/SGCN)	(SGA/SGCN)

CN	21,00	1
0,60%	13,33	0,63
0,12%	19,66	0,94
6%	15,33	0,73

Fonte – FERNANDES (2017).

#### 4.3 Análise do índice mitótico

Também foi analisado o índice mitótico e todos os dados passaram no teste de normalidade (Tabela 9).

Tabela 9 – Teste de normalidade Shapiro-Wilk (alpha=0.05).

Teste de normalidade de Shapiro-Wilk	CN	0,4%	0,8%	4%	CP	AM
Valor P	>0,9999	0,3631	0,7017	>0,9999	0,6369	0,8428
Passou no teste de normalidade (alpha=0.05)?	sim	sim	sim	sim	sim	sim

Fonte – FERNANDES (2017).

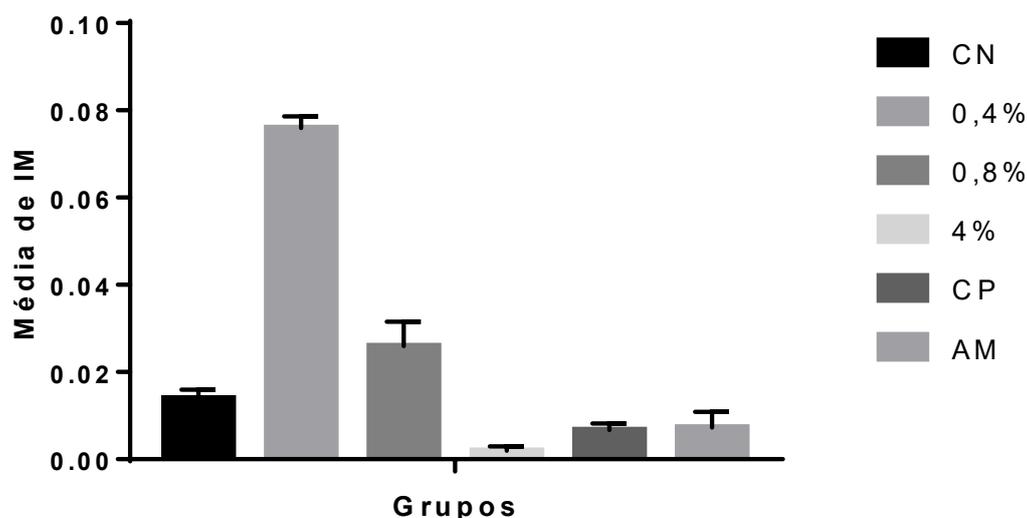
Geralmente o índice mitótico do controle negativo (CN) é o tratamento com maior número de células em divisão, entretanto esta situação não foi observada neste trabalho, o valor do IM do controle negativo foi menor que a concentração da maioria dos extratos testados.

Segundo Hoshina (2002), índices mitóticos maiores que o controle negativo ocorre devido ao aumento na divisão celular, podendo ser danoso para as células, acarretando uma proliferação de células, um crescimento desordenado e até a formação de tecidos tumorais.

Quando há redução do IM em relação ao controle negativo pode ser um indicativo de alterações, derivadas da ação tóxica de compostos, como por exemplo, compostos alelopáticos em plantas tóxicas, sobre o crescimento e desenvolvimento do organismo exposto (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Relacionando o (CN) com os extratos foi observado diferenças significativas em todos os extratos. Aparentemente, houve relação dose resposta ao observarmos que o número de células em divisão foi diminuindo gradativamente da menos concentrada para a mais concentrada. O CP e o AM, não apresentaram diferença significativa devido possuírem a mesma média, logo não podemos afirmar que o extrato dessa planta é antimutagênico pois o AM apresentou o mesmo nível de células em divisão do CP (Figura 4).

**Figura 4** – Gráfico referente ao índice mitótico. Controle negativo (CN), controle positivo (CP) e antimutagênico (AM).



Fonte – FERNANDES (2017).

O teste da ANOVA mostra diferença geral entre os dados a um nível de significância de ( $P < 0,05$ ), e nesse teste o valor de P foi de 0,0001, logo, foi observado uma diferença estatística em todos (Tabela-10).

Tabela 10 – Teste de Análise de Variância (ANOVA).

Códigos	Valores
F	240,1
P value	<0,0001
P value summary	****
Significant diff. among means ( $P < 0.05$ )?	Yes
R square	0,9901

Fonte – FERNANDES, (2017).

Segundo o teste de Fisher's a maioria dos dados deram diferença significativa. Entre todas as concentrações testadas foi confirmado que essas diferenças são sim possíveis e que não houve interferência do desvio padrão. O único que apresentou nenhuma significância foi o CP vs AM, pois a média foi a mesma (Tabela 11).

Tabela 11 – Teste de Fisher's (ANOVA).

Uncorrected Fisher's LSD	Mean Diff,	95,00% CI of diff,	Significant?	Summary	Individual P Value
CN vs. 0,4%	-0,062	-0,068 to -0,056	Yes	****	<0,0001
CN vs. 0,8%	-0,012	-0,018 to -0,0065	Yes	***	0,0005
CN vs. 4%	0,012	0,0065 to 0,018	Yes	***	0,0005
CN vs. CP	0,0073	0,0018 to 0,013	Yes	*	0,0134
CN vs. AM	0,0067	0,0012 to 0,012	Yes	*	0,0218
CP vs. AM	-0,00067	-0,0062 to 0,0048	No	ns	0,7967

Fonte – FERNANDES, (2017).

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir que as concentrações do extrato da casca de *Tabebuia aurea*, quando analisadas, influenciaram na germinação e causaram variação considerável no crescimento de radícula e no índice mitótico de *Allium cepa*, apresentando assim efeito tóxico e citotóxico, porém ,após a análise do índice mitótico foi constatado que o extrato nas três concentrações não foi genotóxico nem antimutagênico ,no entanto, o consumo para uso medicinal da casca dessa planta, deve ser evitado nas concentrações apresentadas neste trabalho, devido ao seu efeito tóxico e citotóxico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M. F. et al. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v. 111, n. 2, p.383-395, mai. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.007>>.

ALBUQUERQUE, U. P. de et al. Comparison between the use of medicinal plants in indigenous and rural caatinga (dryland) communities in NE Brazil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, [S.I.], v. 7, p.1-15, 2008.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 444-447, 2007.

BRASIL. Instrução Normativa nº 30, de 21 de maio de 2009 (estabelece normas e padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras de clima tropical). Diário Oficial da União: Brasília, mai. 2009. Seção 1, p.45-48.

CIPRIANI, F. A. et al. Implicações químicas na sistemática e filogenia de Bignoniaceae. **Química Nova**, [S.l.], v. 35, n. 11, p. 2125-2131, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422012001100005>>.

CHAGAS JUNIOR, J. M.; CARVALHO, D. A.; MANSANARES, M. E. A Família Bignoniaceae Juss (Ipê) no Município de Lavras, Minas Gerais. **Cerne**, Lavras, v. 16, n. 4, p. 517-529, 2010.

CHEUNG, Y. H.; WONG, M. H.; TAM, N. F. Y. Root and shoot elongation as an assessment of heavy metal toxicity and 'Zn equivalent value' of edible crops. **Hydrobiol**, v. 54, p. 377-383, 1989.

COLACITE, J. Triagem fitoquímica, análise antimicrobiana e citotóxica e dos extratos das plantas: *Schinus terebinthifolia*, *Maytenus ilicifolia* REISSEK, *Tabebuia avellanadae*, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENAN. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, PR, v. 8, n. 3, p. 509-516, dez. 2015.

COSTA, R. M. A.; MENCK, C.F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biociência: ciência e desenvolvimento**, v. 3, p. 24-26, 2000.

ERHART, E.; BURIAN, K. Evaluating quality and suppressiveness of Austrian biowaste composts. **Compost Science & Utilization**, v. 5, n. 3, p. 15-24, 1997.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN- MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in poliploidized Cell of *Allium Cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 88, p. 252-259, 2007.

FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12 (edição especial), p. 175-204, 2000.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2004. 323 p.

FISKESJO, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, p. 99-112, 1985.

FURLAN, M. R. **Cultivo de Plantas Mediciniais. Coleção Agroindústria**, 13. Ed. Cuiabá, Mato Grosso: SEBRAE. 1998. p.137.

GADANO, A. et al. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Ethnopharmacology**, Estados Unidos, v. 81, n. 1, p. 11-16, 2002.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introduction to genetic analysis**. 10. ed. New York: W. H. Freeman And Company, 2012. 862 p.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana**. São Paulo: Funpec, 2002. p. 1-131.

GOOGLE. Fases da mitose em células meristemáticas de *Allium cepa*. [mensagem pessoal] Mensagem recebida por:<<https://www.google.com.br/search?biw=1024&bih=494&tbm=isch&sa=1&q=fases+da+>>

mitose+cebola&oq=fases+da+mitose+cebola&gs\_l=psy-ab.3..0i8i30k112.13410.18671.0.19200.9.9.0.0.0.0.320.1790.0j3j4j1.8.0...0...1.1.64.psyab..1.8.1762...0j0i67k1j0i30k1j0i24k1j0i8i13i30k1.CaVjxGVaQOU#imgcr=zOw\_OeKDd5ZnwM:>. em: 16 ago. 2017.

GOOGLE. Mapa. [mensagem pessoal] Mensagem recebida por: <[https://www.google.com.br/search?biw=1024&bih=494&tbm=isch&sa=1&q=mapa+sao+mamede&oq=mapa+sao+mamede&gs\\_l=psy-ab.3...91136.93117.0.93586.2.2.0.0.0.0.248.433.0j1j1.2.0...0...1.1.64.psy-ab..0.0.0.bfEaVx5Qsp0](https://www.google.com.br/search?biw=1024&bih=494&tbm=isch&sa=1&q=mapa+sao+mamede&oq=mapa+sao+mamede&gs_l=psy-ab.3...91136.93117.0.93586.2.2.0.0.0.0.248.433.0j1j1.2.0...0...1.1.64.psy-ab..0.0.0.bfEaVx5Qsp0)>. em: 16 ago. 2017

HOSHINA, M. M. **Avaliação da possível contaminação das águas do Ribeirão Claro, município de Rio Claro, pertencente à bacia do rio Corumbataí, por meio de testes de mutagenicidade em Allium cepa.** 2002. 52 f. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, SP, 2002.

LABOURIAU, L. G. A germinação de sementes. Washington: OEA, 1983. 174 p.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring, a review on its application. **Mutation Research, Amsterdam**, v. 682, p. 71-81. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>>.

LEVAN, A. Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. **Nature**, v. 156, p.751-752, 1945.

LONGHIN, S. R. **Estudo da degradação dos antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina e ampicilina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos.** 2008. 154 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de Brasília. Brasília, DF, 2008.

LORENZI, H. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 178 p.

MA, T. H. et al. The improved Allium/Vicia root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 334, p.185-195, 1995.

MARCOS FILHO, J. Germinação de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1., 1986, Piracicaba. Trabalhos apresentados... Campinas, SP: Fundação Cargill, 1986. p.11-39.

MEUNCHANG, S.; PANICHSAKPTANA, S.; WAEVER, R. W. Co-composting of filter cake and bagasse: by products from a sugar mill. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 437-442, 2005.

OBE, M. G. et al. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. **Mutation Research, Amsterdam**, v. 504, p.17-36, 2002.

PIRES, N. M. et al. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1, p. 55-65, 2001.

PESKE, S. T.; DELOUCHE, J. C. Semeadura de soja em condições de baixa umidade do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, p.69-85, 1985.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. A modified Allium test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, v. 18, p. 49-53, 1993.

RATES, S. M. K. Plants as a source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

REFLORA. Lista de espécies da Flora do Brasil. 2017. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do#CondicaoTaxonCP>>. Acesso em: 11 jun. 2017.

RIBEIRO, L. R. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo, In: L. R. RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**. Canoas: Ulbra, 2003. 355 p.

SETH, C. S. et al. Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of Allium cepa: cytogenetic and comet assay approach. **Ecotoxicology environmental Safety**, New York, v. 71, p. 711-716, 2008.

# CAPÍTULO 21

## ANÁLISE DE GENOTOXIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS DE *Aspidosperma pyrifolium* MART. E *Combretum leprosum* MART. EM *Allium cepa*

DOI: 10.47402/ed.ep.c202173320585

**José Carlos da Silveira Pereira**, Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular, Professor, FACENE/RN

**Edigleyce de Lima Costa Menezes**, Mestre em Produção Animal, Técnica de Nível Superior, UERN

**Eliezer Fernandes da Silva Filho**, Mestre em Produção Animal, Professor de biologia Ceamo

**Naama Jessica de Assis Melo**, Doutora em Fitotecnia, Assistente de Laboratório, UFERSA

**Maria Vitória Dantas Sampaio**, Acadêmica em Farmácia, FACENE/RN

**Marcela Vitória Dantas Sampaio**, Acadêmica em Farmácia, FACENE/RN

**Francisca Vitória Amaral Nóbrega**, Especialista em Gestão Ambiental, UNIFIP

**Marcos Antonio Nobrega de Sousa**, Doutor em genética, Professor Associado, UFCG

### RESUMO

O bioma Caatinga possui grande diversidade vegetal responsável pela subsistência de animais e pessoas, estas por sua vez, utilizam algumas plantas para fins medicinais. A etnofarmacologia é uma fonte comum para a prospecção de fitofármacos, mas, mesmo que sua eficiência seja comprovada, não possuem segurança toxicológica. *Aspidosperma pyrifolium* e *Combretum leprosum* são exemplos de plantas que apresentam diversos usos medicinais. Buscou-se verificar a genotoxicidade de extratos aquosos de *A. pyrifolium* e *C. leprosum*. Sementes de *A. cepa* foram colocadas na presença dos extratos aquosos dessas plantas nas concentrações de 200, 400 e 800 mg/L, com quatro réplicas cada, sendo avaliados índice mitótico das raízes. Os extratos não apresentaram efeitos tóxicos, contudo o efeito subletal quanto o valor limite de citotoxicidade de *C. leprosum* 200 mg/L pode estar associado ao fator de dissociação de cada componente dos extratos, fazendo com que tenham, em conjunto, efeitos distintos em cada concentração, não seguindo um modelo dose-resposta. Estudos com concentrações superiores são necessários para elucidar a genotoxicidade dos extratos aquosos de ambas as espécies, assim como avaliações específicas de citotoxicidade e mutagênese com extratos aquosos e com solventes orgânicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Aspidosperma pyrifolium*. *Combretum leprosum*. Tóxico. Citotóxico.

### INTRODUÇÃO

A vegetação xerófila da Caatinga é resultante de fatores climáticos marcantes da região semiárida em associação aos tipos de solo, relevo e rede hidrográfica característicos da região (ANDRADE-LIMA, 1981). As árvores e arbustos deste bioma durante o período chuvoso representam baixo percentual na oferta de forragem, em relação ao extrato herbáceo (PEREIRA

FILHO; SILVA; CÉZAR, 2013), uma vez que sua folhagem se encontra fora do alcance dos animais, todavia, com o início da estação seca, a fitomassa disponível é enriquecida com a queda das folhas (ANDRADE et al., 2010).

Segundo Araújo Filho (1992), o potencial de produção de matéria seca da Caatinga aproxima-se de 4000 kg/ha/ano, sendo produto da porção forrageira da parte aérea das plantas lenhosas (árvores e arbustos), das folhas e ramos das espécies herbáceas. Essas forragens permitem à exposição dos animais de produção a plantas tóxicas, a qual se dá principalmente por sua presença nas pastagens, contaminação acidental do alimento e/ou oferecimento como alimento (BARBOSA et al., 2007).

Existem no Brasil diversas plantas que causam intoxicações quando ingeridas por animais (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2002; BARBOSA et al., 2007), com muitos registros no Nordeste (RIET-CORREA; BEZERRA; MEDEIROS, 2011).

Os responsáveis pela intoxicação das plantas são, na maioria dos casos, os metabólitos secundários (ANDRADE; MATTOS, 1968; CHEEKE, 1998; PARSONS; WILLIAMS, 2000; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2002; AJASA et al., 2004; HAIDER et al., 2004; CHUKWUJEKWU; VAN STADEN, 2014). Dentre estes metabólitos, as classes químicas mais importantes são: alcalóides, glicosídeos, lecitinas e ácidos orgânicos. Além de outros compostos como minerais (absorvidos do solo e acumulados na planta), como por exemplo, selênio, bário, nitratos e oxalatos (ANDRADE; MATTOS, 1968; CHEEKE, 1998).

Com o consumo das plantas também podem ocorrer perdas diretas (morte, perda de peso ou redução do crescimento, perdas reprodutivas causadas por abortos, infertilidade e malformações) ou indiretas, como os custos para a recuperação ou reposição dos animais (JAMES; NIELSEN; PANTER, 1992). Existem ainda, registros de plantas responsáveis por causar citotoxicidade e genotoxicidade (AKINBORO; BAKARE 2007; SILVA et al., 2011) podendo resultar em morte celular (LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008), a partir de que, os agentes citotóxicos podem induzir uma fase inicial de apoptose, a qual evolui para necrose (ARALDI et al., 2015).

A divulgação das características terapêuticas dos vegetais se dá principalmente pelas observações populares do uso e da eficácia dessas plantas, mesmo sem o conhecimento de seus constituintes químicos. Se desperta, então, o interesse de pesquisadores em diversas áreas,

como botânica, farmacologia e fitoquímica, as quais associadas aumentam as informações sobre a inexaurível a flora, fonte medicinal natural (MACIEL et al., 2002).

A Caatinga apresenta clima semiárido, quente e seco, resultando basicamente em vegetação xerófita (ALMEIDA et al., 2005), mas, devido incluir outros ambientes associados apresenta diversificada vegetação, sendo reconhecidas 12 tipologias diferentes de Caatinga. Subentende-se, então, que a relação entre os fatores abióticos (como solo, clima, pluviosidade) podem explicar parcialmente a diversidade de fisionomias aliada à composição florística, com muitas espécies vegetais endêmicas no bioma (MELO e ANDRADE, 2007).

*Aspidosperma pyrifolium* Mart. (Figura 1A e 1B), pereiro, é uma espécie popularmente conhecida pelo uso como anti-inflamatória do trato urinário, antinociceptiva visceral (dor de estômago, cólicas), por amenizar e prevenir problemas cardíacos, dermatite e sedativo (ALMEIDA et al., 2005; AGRA et al., 2007; ALBUQUERQUE et al., 2007), podendo ser utilizada agronomicamente no controle de fitopatógenos (MUÑOZ et al., 2000). Ela também apresenta atividade antimalárica moderada (MUÑOZ et al., 2000), sendo seus alcalóides indólicos eficazes (MITAINE-OFFER et al., 2002), também associados a efeitos inseticidas (TRINDADE et al., 2008).

**Figura 1.** Flores e frutos de *Aspidosperma pyrifolium* e *Combretum leprosum*.



A: Flores de *Aspidosperma pyrifolium*; B: Frutos de *Aspidosperma pyrifolium*; C: Flores de *Combretum leprosum*; D: Frutos de *Combretum leprosum*. Fonte de A: <https://www.flickr.com/photos/123086801@N02/14340351795/>; Fonte de B: <https://www.virboga.de/pics/big/008097.jpg>; Fonte de C e D: o autor.

*Combretum leprosum* Mart. (Figura 1C e 1D), mofumbo (LIRA et al., 2002) é uma espécie utilizada na medicina popular como um agente de cura e prevenção de infecções a pele (HORINOUCI et al., 2013), expectorante e antitússico (AGRA et al., 2007), sedativo, antidiarreico, bronquite, gripe, coqueluche, difteria, azia, hemostático (ALBUQUERQUE et al., 2007; PAULINO et al., 2012) e ainda como antiofídico (MORS et al., 2000).

Os estudos farmacológicos com extratos e compostos isolados de diferentes partes da planta sugerem que as atividades biológicas de *C. leprosum* incluem efeitos anticolinesterásico (FACUNDO et al., 2005), antiulcerogênico (NUNES et al., 2009), antinociceptivo (LONGHI-BALBINOT et al., 2012), anti-inflamatório e antiproliferativo (HORINOUCI et al., 2013), e contra a forma promastigota de *Leishmania amazonenses* (TELES et al., 2011).

Além das utilizações medicinais, as espécies são utilizadas como forrageiras para animais de produção (DAMASCENO; SOUTO; SOUTO, 2010), sendo *A. pyrifolium* reconhecida como tóxica a pequenos ruminantes (MEDEIROS et al., 2004; LIMA; SOTO-BLANCO, 2010). Nesse contexto, buscou-se verificar a citotoxicidade de extratos aquosos de *A. pyrifolium* e *C. leprosum*, visando contribuir com o conhecimento toxicológico sobre estas espécies.

## METODOLOGIA

**Coleta das amostras** – Folhas de *A. pyrifolium* e *C. leprosum* foram coletadas no município de Russas, CE (4°50'59.9"S 37°53'29.9"W e 4°50'28.6"S 37°54'05.5"W, respectivamente), no mês de abril de 2015. A identificação taxonômica foi obtida no Herbário Dárdano de Andrade-Lima (UFERSA), sob os códigos 14525 e 10195, respectivamente. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e transportadas para Laboratório de Genética e Evolução (LAGENE - UFERSA) para secagem e obtenção do extrato.

**Obtenção dos extratos** – os extratos aquosos do material vegetal seco foram obtidos conforme Matsumoto *et al.* (2010) com modificações. As folhas foram selecionadas, secas à temperatura ambiente e trituradas em liquidificador até a obtenção de pó fino. Os extratos aquosos 10% (p/v) foram preparados pela diluição de 100 g de cada material em água destilada, em agitador magnético a 4 °C por 24 h. O material foi filtrado em malha de tecido fino, seguido de filtração a vácuo com papel filtro (14 µm).

**Análise de genotoxicidade** - O bioensaio foi realizado em câmara de germinação do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.) com temperatura controlada de 20 °C e fotoperíodo de 12 h. Sementes de *Allium cepa*, variedade NUM 1205 F1, foram acondicionadas em caixas plásticas do tipo *gerbox* (11 x 11 cm) forradas com dupla camada de papel mata-borrão umedecido com solução de 10 mL dos diferentes tratamentos: (A) extrato de *A. pyrifolium* (200; 400 e 800 mg/L) e (C) extrato de *C. leprosum* (200; 400 e 800 mg/L) e água destilada (controle negativo - CN) e sulfato de cobre 3 mg/L (controle positivo - CP) em quadruplicada.

Para a análise citogenética, realizou-se os testes de índice mitótico (IM) empregando a técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002). Quando as raízes atingiram 2,0 cm de comprimento (aproximadamente cinco dias após o início do ensaio) (LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008), as raízes (duas raízes de cada réplica) foram colocadas em solução fixadora de Carnoy (etanol: ácido acético – 3:1) durante 24h. Para o preparo das lâminas, as raízes foram retiradas do fixador, lavadas em água destilada (3 banhos de 5 min), hidrolisadas em HCl 1N a 60 °C por 11 minutos e lavadas mais uma vez em água destilada. Em seguida, com auxílio de uma pinça e de uma lâmina de bisturi, a coifa (porção apical da raiz) de aproximadamente 1 mm a 2 mm de comprimento foi retirada e colocada sob uma lâmina. Adicionou-se uma gota de carmim acético 2% e corado durante 5 minutos. A lamínula foi então colocada sobre a lâmina e foi realizado o squash (esmagamento) com o dedo polegar, com razoável pressão (GUERRA; SOUZA, 2002).

As lâminas de cada bioindicador foram analisadas, pelo método de varredura, em microscópio óptico para observação no aumento de 400X, 4 repetições de 1000 células/tratamento, com um total de 4000 células por tratamento. O índice mitótico foi obtido dividindo-se o número de células em mitose pelo número total de células observadas e multiplicando-se por 100, sendo analisada a presença de prófase, metáfase, anáfase e telófase. Também foi calculado o valor limite da citotoxicidade, segundo a equação:

Valor limite da citotoxicidade =  $IMA / IMC \times 100$ , onde, IMA é o índice mitótico da amostra, e IMC é o índice mitótico do controle negativo.

**Análise estatística** - As avaliações estatísticas foram realizadas através de Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), a normalidade foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software R versão 3.1.3.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que o sulfato de cobre 3 mg/L não se mostrou um controle positivo eficiente, pois foi verificada igualdade estatística com o controle negativo em todas as fases da mitose e no índice mitótico (Tabela 1).

Estas condições divergem do estudo realizado por Yildiz et al. (2009), o qual observou diferença estatística significativa do tratamento com água destilada (controle negativo) e igualdade com metil-metanosulfonato 10 mg/L, um controle positivo comumente utilizado no

teste de *Allium cepa* (SILVA et al., 2013; FRANCO et al., 2015). Uma diferença importante, é que nos trabalhos acima citados ocorreram trocas diárias das soluções nas quais as raízes estavam expostas, evitando oxidação e neste trabalho foi utilizado apenas uma solução única que teve o volume completado diariamente.

**Tabela 1.** Índice mitótico e valor limite de citotoxicidade de *Allium cepa* sob o efeito do extrato aquoso de *A. pyrifolium* e *C. leprosum*.

Tratamento	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	IM (%)	VLC (%)	
Controle Negativo	6,3 ± 1,3 <sup>bc</sup>	7,5 ± 3,1 <sup>a</sup>	14,5 ± 4,5 <sup>ab</sup>	3 ± 0,8 <sup>bc</sup>	3,1 ± 0,6 <sup>ab</sup>	-*	
Controle Positivo	6 ± 6 <sup>bc</sup>	6,5 ± 6 <sup>a</sup>	12,3 ± 8,1 <sup>ab</sup>	1,5 ± 1,3 <sup>c</sup>	2,3 ± 2,1 <sup>ab</sup>	74	
<i>A. pyrifolium</i>	200 mg/L	13,3 ± 2,2 <sup>a</sup>	11,8 ± 2,4 <sup>a</sup>	12,3 ± 5,2 <sup>ab</sup>	5,5 ± 1,7 <sup>b</sup>	4,3 ± 0,7 <sup>a</sup>	137
	400 mg/L	13 ± 3,5 <sup>ab</sup>	8 ± 6,3 <sup>a</sup>	8,5 ± 5,8 <sup>ab</sup>	9,7 ± 1,5 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	143
	800 mg/L	7,5 ± 3 <sup>abc</sup>	7 ± 2,9 <sup>a</sup>	12,5 ± 3,3 <sup>ab</sup>	2,7 ± 2,1 <sup>bc</sup>	3,1 ± 1,2 <sup>ab</sup>	100
<i>C. leprosum</i>	200 mg/L	2,8 ± 1,5 <sup>c</sup>	3,8 ± 2,6 <sup>a</sup>	2,8 ± 2,4 <sup>b</sup>	2,5 ± 1,9 <sup>bc</sup>	1,2 ± 0,5 <sup>b</sup>	38 <sup>Sb</sup>
	400 mg/L	10 ± 1,2 <sup>ab</sup>	10,8 ± 4,8 <sup>a</sup>	17 ± 7 <sup>a</sup>	3,5 ± 1 <sup>bc</sup>	4,1 ± 1,2 <sup>a</sup>	132
	800 mg/L	7,5 ± 3,1 <sup>abc</sup>	3 ± 2,6 <sup>a</sup>	9,5 ± 4,4 <sup>ab</sup>	3,3 ± 1,5 <sup>bc</sup>	2,7 ± 1,3 <sup>ab</sup>	86

Médias ± desvio padrão na mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*Valor de referência para o valor limite de citotoxicidade (VLC). Sb – subletal.

Fonte: o autor.

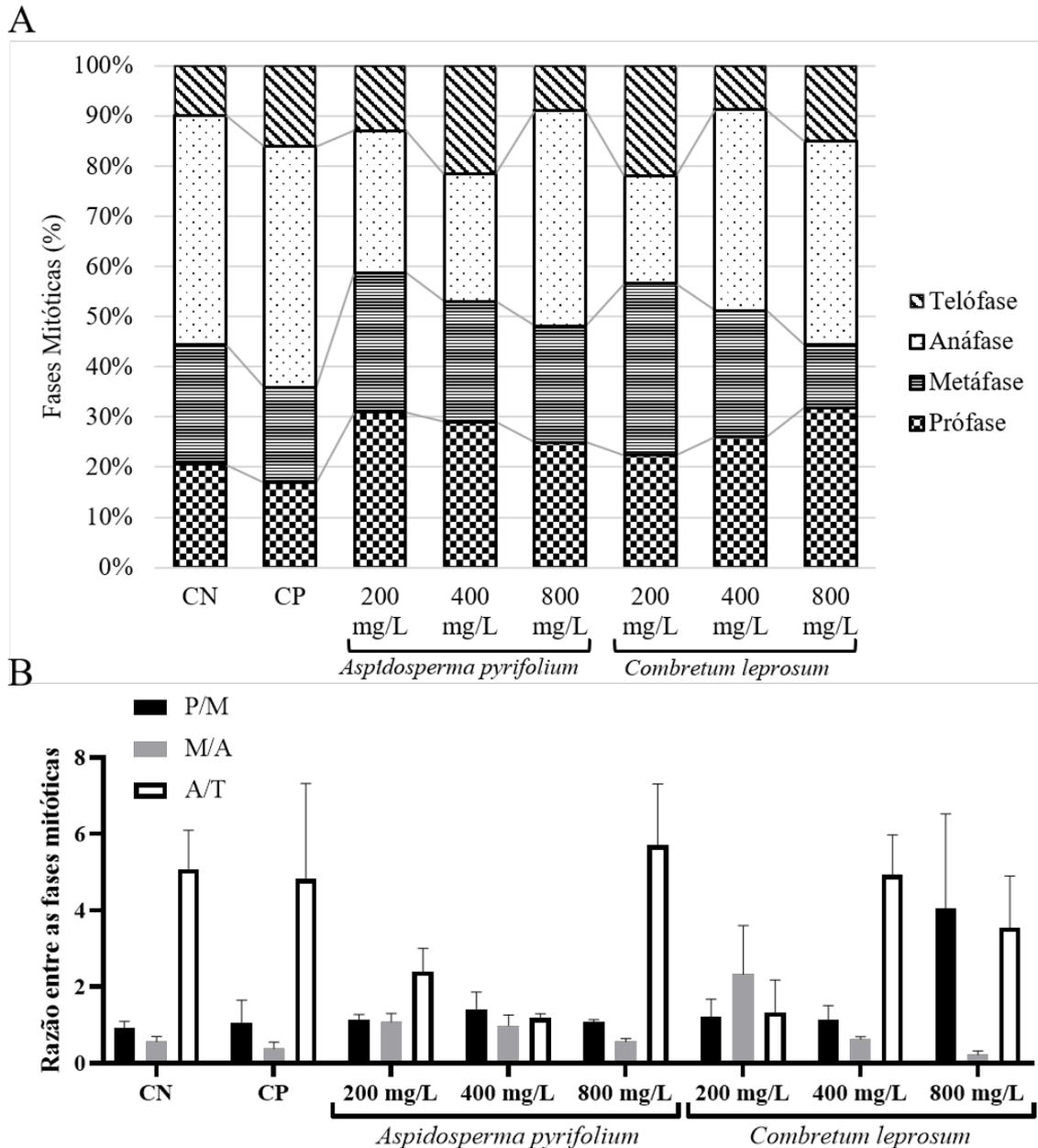
A avaliação das células em mitose sob o tratamento do extrato aquoso de *A. pyrifolium* mostrou que elas não diferiram estatisticamente significativamente, com exceção das células em telófase, sob o tratamento 400 mg/L que apresentaram aumento de seu número médio, resultando em uma distribuição em parábola negativa. O índice mitótico (IM) deste tratamento apresentou valores médios iguais ou superiores aos observados no controle negativo, refletindo em valores limites de citotoxicidade  $\geq 100\%$  (Tabela 1).

Na análise do IM no bioensaio com extrato de *C. leprosum* (Tabela 1) observou-se que os valores não diferiram estatisticamente do controle negativo, mas o tratamento com 200 mg/L apresentou uma diferença em relação ao tratamento com 400 mg/L. Os valores médios das células em mitose observadas com 400 mg/L de *C. leprosum* diferiram apenas do tratamento com 200 mg/L e exclusivamente em prófase e metáfase, resultando em IM de 4,1%, com VLC de 132%. Isso pode ter ocorrido devido a dissociação de algumas substâncias químicas devido ao maior volume de água do tratamento com 400 mg/L em relação ao de 200 mg/L, levando a uma redução no número de células em divisão, o que refletiu no valor limite de citotoxicidade (VLC), sendo esta substância classificada como subletal a 38%.

O sistema de controle do ciclo celular efetua processos regulatórios baseando-se em pontos de verificação, sendo os três principais: início ou G1/S; G2/M; transição metáfase-anáfase (MORGAN, 2007). No entanto, apesar do aumento significativa do número de células

em telófase sob efeito de *A. pyriformium* 400 mg/L e sugestiva alteração percentual entre as fases em relação ao controle negativo (Figura 2A), principalmente anáfase e telófase, quando analisada a razão entre as fases nas células expostas a tratamentos com extratos de *A. pyriformium* e *C. leprosum* não foi observado um bloqueio do ciclo celular (Figura 2B).

**Figura 1.** Percentual e razão das fases do ciclo celular de *Allium cepa* sob o efeito do extrato aquoso de *A. pyriformium* e extrato aquoso de *C. leprosum*.



P/M: razão entre prófase e metáfase; M/A: razão entre metáfase e anáfase; A/T: razão entre anáfase e telófase; CN: controle negativo; CP: controle positivo. Fonte: o autor.

Existe uma correlação linear entre os parâmetros macroscópicos e microscópicos, de modo que em *Allium cepa*, com a redução do crescimento de raízes, também ocorre redução do

número de células em divisão, ou seja, do índice mitótico (FISKESJÖ, 1985; AKINBORO; BAKARE, 2007; BORGES et al., 2011), que ocorre no meristema apical, podendo ser observado em associação com o aparecimento de raízes atrofiadas, indicando atraso no crescimento e citotoxicidade (YILDIZ et al., 2009). Na análise desse parâmetro quanto ao efeito desses extratos, esta correlação pode também ser positivamente associada à matéria seca, pois ela é produto do crescimento e alongamento celular multidimensional (PEREIRA et al., 2021). No entanto, o comprimento e a matéria seca nos diferentes tecidos observados neste estudo aparentemente não estão correlacionados com o índice mitótico (PEREIRA et al., 2021).

## CONCLUSÃO

Os extratos não apresentam efeitos tóxicos nas condições testadas, contudo o extrato de *C. leprosum* 200 mg/L produziu um efeito subletal quanto avaliado o valor limite de citotoxicidade. Por não ter efeito similar nas demais concentrações, isto pode estar associado ao fator de dissociação de cada componente do extrato, fazendo com que tenham, em conjunto, efeitos distintos em cada concentração, não seguindo um modelo dose-resposta. Estudos com extratos obtidos com solventes orgânicos e seus fracionamentos são necessários para elucidar a citotoxicidade dos extratos aquosos de *Aspidosperma pyrifolium* e *Combretum leprosum*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, M. F. et al. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 383–395, 2007.
- AJASA, A. M. O. et al. Heavy trace metals and macronutrients status in herbal plants of Nigeria. **Food Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 67–71, 2004.
- AKINBORO, A.; BAKARE, A. A. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 3, p. 470–475, 2007.
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brasil: a quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325-354, 2007.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R. et al. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**, v. 62, pp. 127–142, 2005.
- ANDRADE, A. P. et al. Produção animal no semiárido: o desafio de disponibilizar forragem, em quantidade e com qualidade, na estação seca. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 4, n. 4, p. 1-14, 2010.

ANDRADE, S. O.; MATTOS, J. R. **Contribuição do estudo de plantas tóxicas no estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto Biológico, 1968. 101 p.

ANDRADE-LIMA, D. The caatingas dominium. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 4, p. 149-153, 1981.

ARALDI, R. P. et al. Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 72, p. 74–82, 2015.

ARAÚJO FILHO, J. A. **Manipulação da vegetação lenhosa da caatinga para fins pastoris**. Sobral, CE: EMBRAPA-CNPC, 1992. 18 p. (EMBRAPA-CNPC. Circular Técnica 11).

BARBOSA, R. R. et al. Plantas tóxicas de interesse pecuário: importância e formas de estudo. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 1, n. 1, p. 1–7, 2007.

BORGES, C. S. et al. Efeitos citotóxicos e alelopáticos de extratos aquosos de *Ricinus communis* utilizando diferentes bioindicadores. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 5, n. 3, p. 15-20, 2011.

CHEEKE, P. R. **Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants**. 2. ed. Danville: Interstate Publishers, 1998. 479 p.

CHUKWUJEKWU, J. C.; VAN STADEN, J. Cytotoxic and genotoxic effects of water extract of *Distephanus angulifolius* on *Allium cepa* Linn. **South African Journal of Botany**, v. 92, p. 147–150, 2014.

DAMASCENO, M. M.; SOUTO, J. S.; SOUTO, P. C. Etnoconhecimento de espécies forrageiras no semi-árido da Paraíba, Brasil. **Engenharia Ambiental**, v. 7, n. 3, p. 219-228, 2010.

FACUNDO, V. A. et al. Arjunolic acid in the ethanolic extract of *Combretum leprosum* root and its use as a potential multi-functional phytomedicine and drug for neurodegenerative disorders: anti-inflammatory and anticholinesterasic activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1309–1312, 2005.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 1985.

FRANCO, C. H. et al. Mutagenic potential of lettuce grown from irradiated seeds. **Scientia Horticulturae**, v. 182, p. 27–30, 2015.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana**. São Paulo: Funpec, p. 1-131, 2002.

HAIDER, S. et al. Heavy metal content in some therapeutically important medicinal plants. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, n. 1, p. 119–127, 2004.

HORINOUCI, C. D. S. et al. *Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae): Potential as an antiproliferative and anti-inflammatory agent. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 1, p. 311–319, 2013

JAMES, L. F.; NIELSEN, D. B.; PANTER K. E. Impact of poisonous plants on the livestock industry. **Journal of Range Management**, v. 45, n. 1, p. 3-8, 1992.

LEME, D. M.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 4, p. 214–219, 2008.

LIMA, M. C. J. S.; SOTO-BLANCO, B. Poisoning in goats by *Aspidosperma pyriforme* Mart.: Biological and cytotoxic effects. **Toxicon**, v. 55, n. 2–3, p. 320–324, 2010.

LIRA, S. R. S. et al. Preliminary Studies on the Analgesic Properties of the Ethanol Extract of *Combretum leprosum*. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, n. 3, p. 213–215, 2002.

LONGHI-BALBINOT, D. T. et al. Anti-inflammatory effect of triterpene 3b, 6b, 16b-trihydroxylup-20(29)-ene obtained from *Combretum leprosum* Mart & Eich in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 59–64, 2012.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, vol.25, n.3, pp. 429-438, 2002.

MATSUMOTO, R. S. et al. Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 631–635, 2010.

MEDEIROS, R. M. T. et al. Mortalidade embrionária e abortos em caprinos causados por *Aspidosperma pyriforme*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24 (Supl.), p. 42–43, 2004.

MELO, J. I. M.; ANDRADE W. M. Boraginaceae s.l. A.Juss. em uma área de Caatinga da ESEC Raso da Catarina, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 2, pp. 369-378, 2007.

MITAINE-OFFER, A. C. et al. Antiplasmodial activity of *Aspidosperma indole* alkaloids. **Phytomedicine**, v. 9, n. 2, p. 142–145, 2002.

MORGAN, D. O. **The Cell Cycle: Principles of Control**. New Science Press, 2007.

MORS, W. B. et al. Plant natural products active against snake bite — the molecular approach. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 627–642, 2000.

MUÑOZ, V. et al. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach: Part III. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by Alteños Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1–2, p. 123–131, 2000.

NUNES, P. H. et al. Antiulcerogenic activity of *Combretum leprosum*. **Die Pharmazie**, v. 64, n. 1, p. 58–62, 2009.

PARSONS, A. F.; WILLIAMS, D. A. J. Radical cyclisation reactions leading to polycyclics related to the amaryllidaceae and *Erythrina* alkaloids. **Tetrahedron**, v. 56, n. 37, p. 7217–7228, 2000.

PAULINO, R. C. et al. Medicinal plants at the Sítio do Gois, Apodi, Rio Grande do Norte State, Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 1, p. 29–39, 2012.

PEREIRA FILHO, J. M.; SILVA, A. M. DE A.; CÉZAR, M. F. Manejo da Caatinga para produção de caprinos e ovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 1, 2013.

PEREIRA, J. C. da S.; PAIVA, K. M.; MELO, N. J. de A.; BARBOSA, T. N.; MORAIS, P. L. D. de; VAEZ, J. R.; TORRES, S. B.; SOUSA, M. A. N. de. Allelopathy, toxicity and phytochemical profile of aqueous extracts from *Aspidosperma pyrifolium* and *Combretum leprosum*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e55610414568, 2021.

RIET-CORREA, F.; BEZERRA, C. W. C.; MEDEIROS, R. M. T. **Plantas Tóxicas do Nordeste**. Patos, PB: Sociedade Vicente Pallotti Editora, 2011.

SILVA, D. S. B. S. et al. Investigation of protective effects of *Erythrina velutina* extract against MMS induced damages in the root meristem cells of *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 273–278, 2013.

TELES, C. B. G. et al. Activity of the Lupane isolated from *Combretum leprosum* against *Leishmania amazonensis* promastigotes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 5, p. 936–942, 2011.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. **Toxicon**, v. 40, n. 12, p. 1635–1660, 2002.

TRINDADE, R. C. P. et al. Mortality of *Plutella xylostella* larvae treated with *Aspidosperma pyrifolium* ethanol extracts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1813–1816, 2008.

YILDIZ, M. et al. Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. **Chemosphere**, v. 75, n. 7, p. 934–938, 2009.

# CAPÍTULO 22

## POTENCIAL TÓXICO, GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DO EXTRATO AQUOSO DE *CAESALPINIA PYRAMIDALIS* EM *ALLIUM CEPA*

DOI: 10.47402/ed.ep.c202173421585

**Idineide Lidiane Silva**, Licenciada em Ciências Biológicas, UFCG  
**Naama Jessica de Assis Melo**, Doutora em Fitotecnia, Assistente de Laboratório, UFERSA  
**Edigleyce de Lima Costa Menezes**, Mestra em Produção Animal, Técnica de Nível Superior, UERN

**Eliezer Fernandes da Silva Filho**, Mestre em Produção Animal, Professor de biologia Ceamo

**José Carlos da Silveira Pereira**, Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular, Professor, FACENE/RN

**Tháís Lucena de Oliveira**, Acadêmica em ciências biológicas, UFCG

**Francisca Vitória Amaral Nóbrega**, Especialista em Gestão Ambiental- UNIFIP

**Marcos Antonio Nobrega de Sousa**, Doutor em genética, Professor Associado, UFCG

### RESUMO

A *Caesalpinia pyramidalis*, mais conhecida como catingueira, é uma árvore endêmica do semiárido brasileiro, de grande valor econômico e cultural. É uma planta que possui propriedades medicinais, sendo utilizada, sobretudo, nos tratamentos de infecções respiratórias e gastrointestinais. O objetivo deste estudo foi testar a toxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do extrato aquoso da casca caulinar da *C. pyramidalis* na germinação e crescimento radicular de sementes de *Allium cepa* (cebola). Foram utilizadas as concentrações de 0,6% (6 g/1000 mL), 0,12% (6g/500 mL) e 6% (6g/100mL) para os tratamentos com o extrato aquoso da *C. pyramidalis*, água destilada como controle negativo, colchicina (0,5%) como controle positivo e uma solução de colchicina (0,5%) e extrato aquoso (6%) para o teste de antimutagenicidade. A toxicidade foi estimada pela porcentagem de germinação, tempo médio de germinação (TMG), velocidade de germinação (VMG), índice de germinação (IG), índice de crescimento relativo (ICR) e Inibição relativa (IR) das radículas. Também foram observadas anomalias na morfologia das radículas. Não houveram diferenças estatísticas nos valores de porcentagem, tempo médio e velocidade de germinação entre os tratamentos. Quanto ao comprimento das radículas, todas as concentrações testadas mostram-se tóxicas, pois inibiram significativamente o crescimento das radículas. O IG, o ICR e a IR também mostraram a toxicidade da *C. pyramidalis*. O extrato aquoso na concentração de 6% não apresentou efeito antimutagênico na colchicina. As anomalias observadas no crescimento das radículas sugerem processos genotóxicos. Conclui-se que o extrato aquoso de *C. pyramidalis* foi tóxico às células de *A. cepa* em todas as concentrações testadas, afetando negativamente o crescimento radicular, contudo, não houve influência significativa na germinação das sementes do organismo teste.

**PALAVRAS-CHAVE:** Toxicologia, Fabaceae, germinação, planta medicinal, fitoterapia.

## INTRODUÇÃO

A caatinga é o bioma predominante do Nordeste do Brasil e possui uma ampla biodiversidade vegetal. Das 123 famílias de plantas angiospermas, distribuídas pelos domínios de caatinga (FLORA DO BRASIL, 2017), a família Fabaceae é uma das mais presentes (BARBOSA et al., 2007; FABRICANTE; ANDRADE, 2007). E grande parte das espécies dessa família são procuradas pela população em virtude das suas propriedades medicinais (GAO et al., 2010).

As plantas medicinais são aquelas capazes de curar doenças ou aliviar sintomas, e são utilizadas desde os primórdios da humanidade (LORENZI, 2009). Constituem em uma alternativa para o tratamento de diversas enfermidades, são de fácil acesso e seu uso é regulamentado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (FRANÇA et al., 2007).

A *Caesalpinia pyramidalis*, conhecida popularmente como catingueira, é uma leguminosa arbórea, endêmica da caatinga e uma das espécies mais características do Nordeste (SILVA et al., 2013). É conhecida, sobretudo, pelo seu uso terapêutico em infecções respiratórias e intestinais. Geralmente consumida pela população na forma de chás e infusões de suas folhas, cascas e entrecasca (AGRA et al., 2008). Possui comprovada atividade biológica antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (SANTOS, 2010; SANTANA et al., 2012; SARAIVA et al., 2012; SILVA et al., 2012).

Apesar das pessoas, com base no conhecimento popular, utilizarem amplamente as plantas medicinais, existe o risco do consumo indiscriminado e inadequado destas plantas. Muitas delas ainda não possuem informações suficientes sobre toxicidade para um consumo totalmente seguro (FACHINETTO et al., 2007). Desta maneira, fazem-se necessários estudos mais aprofundados para se ter o conhecimento das substâncias tóxicas presentes nessas espécies.

O teste em *Allium cepa* é um dos ensaios citogenéticos mais utilizados pelos pesquisadores para diversos testes de toxicidade tanto no nível morfológico quanto citogenético. O teste *A. cepa* também é eficiente na determinação dos efeitos de extratos e infusões de plantas medicinais (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007). Da mesma forma, os testes com germinação e crescimento de raízes são igualmente sensíveis a diversas substâncias tóxicas (TAM; TIQUIA, 1994; YOUNG et al. 2012).

O objetivo deste trabalho é avaliar o potencial tóxico, genotóxico e mutagênico do extrato aquoso (EA) de *Caesalpinia pyramidalis* (Catingueira).

## REFERENCIAL TEÓRICO

### FABACEAE

A família Fabaceae é a terceira maior família de angiospermas do mundo em número de espécies (CHRISTENHUSZ; BYNG, 2016). Também é a melhor representada quantitativamente nos domínios de caatinga do Nordeste, contando com 87 gêneros e 357 espécies (QUEIROZ, 2009; FLORA DO BRASIL, 2017).

É uma família de grande importância econômica, várias leguminosas pertencentes a esta família, como feijão (*Phaseolus vulgaris*), ervilha (*Pisum sativum*), soja (*Glycine max*) e amendoim (*Arachis hypogaea*) são utilizadas como alimentação (LIMA, 2006, SOUZA; LORENZI, 2008).

Também possui relevância em outras áreas comerciais, como a de produção de tintas, a exemplo do pigmento azul oriundo de algumas espécies do gênero *Indigofera* e o pigmento vermelho extraído da *Caesalpinia echinata*, o pau-brasil (OLIVEIRA, 2010), espécie que teve grande importância na história do Brasil.

As espécies da família Fabaceae também são bastante procuradas em termos de propriedades medicinais, com boa parte das espécies sendo utilizadas para este fim (GAO et al., 2010). No Brasil, espécies como copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), tamarindo (*Tamarindus indica* L.), umburana-de-cheiro (*Amburana cearensis* (Allemao)), mulungu (*Erythrina verna* Vell.) e pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul.) são apenas algumas das espécies mais lembradas pelas suas propriedades medicinais e conhecidos princípios ativos (LORENZI, 2008).

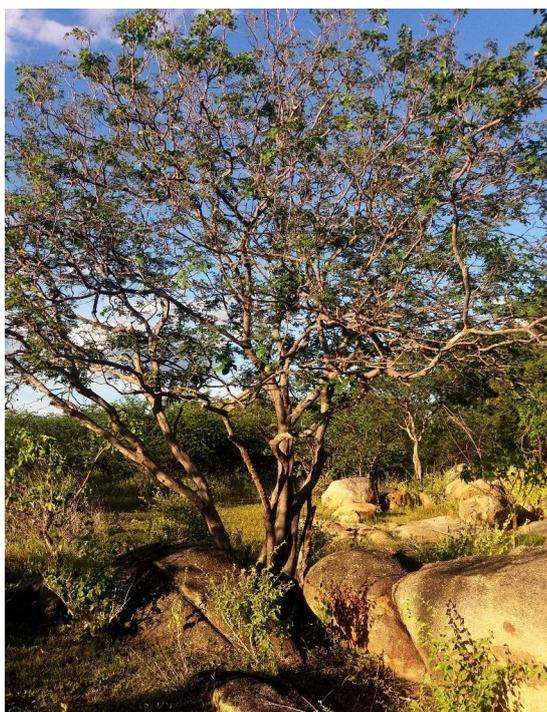
Regionalmente também há uma prevalência nas espécies de Fabaceae, que frequentemente são citadas como medicinais nos estudos etnobotânicos quali-quantitativos (ALMEIDA; ALBUQUERQUE, 2002; AMOROZO, 2002; MORAIS et al., 2005; SILVA; ALBUQUERQUE, 2005).

O organismo alvo deste estudo, a *Caesalpinia pyramidalis* Tul, é uma das espécies medicinais arbóreas mais citadas nos levantamentos etnobotânicos da caatinga (OLIVEIRA et al., 2007).

## **CAESALPINIA PYRAMIDALIS TUL**

A *Caesalpinia pyramidalis* Tul (Figura 1) é uma planta leguminosa da família Fabaceae, pertencente à subfamília Caesalpinioideae, endêmica da caatinga do nordeste brasileiro. Apresenta características específicas para o clima semiárido, como o xerofitismo e o heliofitismo (LORENZI, 2009).

**Figura 1:** Exemplar de *Caesalpinia pyramidalis*



**Fonte:** os autores

Popularmente, é conhecida como catingueira, catinga-de-porco, pau-de-rato, pau-de-porco, mucitaíba, catingueira-da-folha-larga e pau-amarante. É uma das plantas características da paisagem do sertão nordestino, sendo uma das primeiras plantas a ressurgir com a chegada do período chuvoso (BRAGA, 1960; LIMA, 1989).

Sua morfologia, no que diz respeito à altura, depende da região onde está inserida. Em áreas mais secas apresenta-se como uma arvoreta, não passando dos 4 m de altura. Já nas várzeas úmidas pode atingir até 10 m de altura. Quando adulta, possui casca de cor acinzentada. Sua folhagem é decídua, as folhas são compostas, alternas, bipinadas, com 5-11 folíolos, oblongas, lâmina dos folíolos membranácea, lustrosa e glabra na face superior. Possui flores amarelas, zigomorfas, andróginas, dispostas em racemos terminais e subterminais, posicionadas acima da folhagem. O fruto é uma vagem achatada, de cor escura, apresentando 5-7 sementes

e, quando atinge a maturação, sua deiscência ocorre de forma explosiva. (BRAGA, 1960; LIMA, 1989; LORENZI, 2009).

## TOXICIDADE

Todos os organismos vivos estão sujeitos à exposição de agentes extrínsecos de natureza química, física e/ou biológica, que podem interferir no funcionamento do organismo a nível celular ou molecular, podendo desencadear doenças, processos cancerosos ou morte celular (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

A avaliação de toxicidade é importante na detecção do potencial em causar lesões letais ou subletais que agentes extrínsecos aos sistemas vivos podem apresentar.

No âmbito das plantas medicinais, é importante o conhecimento da toxicidade em nível celular, tanto para o consumo seguro dessas plantas, quanto para o estímulo de mais estudos sobre os metabólitos que possam causar efeitos adversos às células. Para Costalonga (2009, p. 26):

Os efeitos fisiológicos, genotóxicos e mutagênicos no organismo humano são muitas vezes negligenciados, tanto pela população que as utiliza geralmente de forma errônea e indiscriminada, quanto pela ciência, que às vezes não investiga a fundo o potencial tóxico dos metabólitos presentes.

## *ALLIUM CEPA* NOS ENSAIOS DE TOXICIDADE, CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE.

Ensaio com *Allium cepa* vem sendo utilizados em ensaios de toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade, além de estudos que visam conhecer as alterações cromossômicas causadas por agentes mutagênicos presentes no ambiente desde meados do século XX, quando Levan (1938) publicou seu estudo sobre os efeitos da colchicina no ciclo mitótico deste organismo.

Trata-se de um sistema simples, de baixo custo, rápido e confiável, além de apresentar resultados similares a testes realizados em diferentes organismos, como bactérias, crustáceos e mamíferos (CONSTANTIN; OWENS, 1982; FISKESJÖ, 1985), o que faz do teste com *A. cepa* uma alternativa confiável aos ensaios com animais.

Uma variedade de estudos comprova a consistência do teste *A. cepa* como um bom ensaio de triagem. Ele é sensível a diversos agentes extrínsecos, como mutagênicos presentes em aditivos alimentares e inseticidas. É uma importante ferramenta no monitoramento ambiental, apresentando sensibilidade a uma vasta gama de agentes químicos. Além de poder ser utilizado nos estudos de infusões e extratos de plantas medicinais (SAX; SAX, 1968;

FISKESJÖ, 1985; VICENTINI et al., 2001; CAMPAROTO et al. 2002; LEME; MARIN-MORALES, 2009; RATHNASAMY et al., 2013).

Os testes de genotoxicidade em *Allium cepa* são validados pela Organização Mundial da Saúde e pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007; KWANKUA et al., 2010).

O teste de germinação de sementes em laboratório também é parâmetro de toxicidade, e é eficaz na detecção da toxicidade de agentes variados (TAM; TIQUIA, 1994). É importante na determinação de agentes tóxicos e mutagênicos, tanto para as espécies de importância agrícola, quanto para organismos modelos em estudos citogenéticos, como *Allium cepa* e *Lactuca sativa* (BELCAVELLO et al., 2012; ROSA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015).

## GERMINAÇÃO DE SEMENTES

As sementes são o resultado final da embriogênese nas espécies vegetais, e consistem, basicamente, de um embrião e um tecido de reserva nutricional (endosperma). É na semente que está contida toda a informação para a “construção” e desenvolvimento da futura planta, incluindo os processos de morfogênese, organogênese e histogênese. O embrião, ao final da embriogênese, torna-se resistente à dessecação; a semente desidrata-se, e o metabolismo entra em estado quiescente, ou, em alguns casos, em estado de dormência (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A germinação consiste na reativação do metabolismo e retomada do crescimento do embrião, que irá superar o estado quiescente e desencadeará uma série de reações metabólicas, regidas por processos fisiológicos intrínsecos de cada espécie (FLORES et al., 2014). Inicia-se com a absorção de água pela semente e termina com a penetração das estruturas que cercam o embrião pela radícula, processo este chamado de germinação visível (BEWLEY, 1997).

A germinação em laboratório “é a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal [...]” (BRASIL, 2009a, p. 148).

Universalmente, a germinação de sementes é regida pelas condições ambientais das quais dependem o crescimento vegetativo das plantas: disponibilidade de água e oxigênio, condições de temperatura adequadas e ausência de substâncias inibidoras. Condições fisiológicas, como a atividade de alguns hormônios, sobretudo o ácido abscísico, também direcionam a germinação (TAIZ; ZEIGER, 2013).

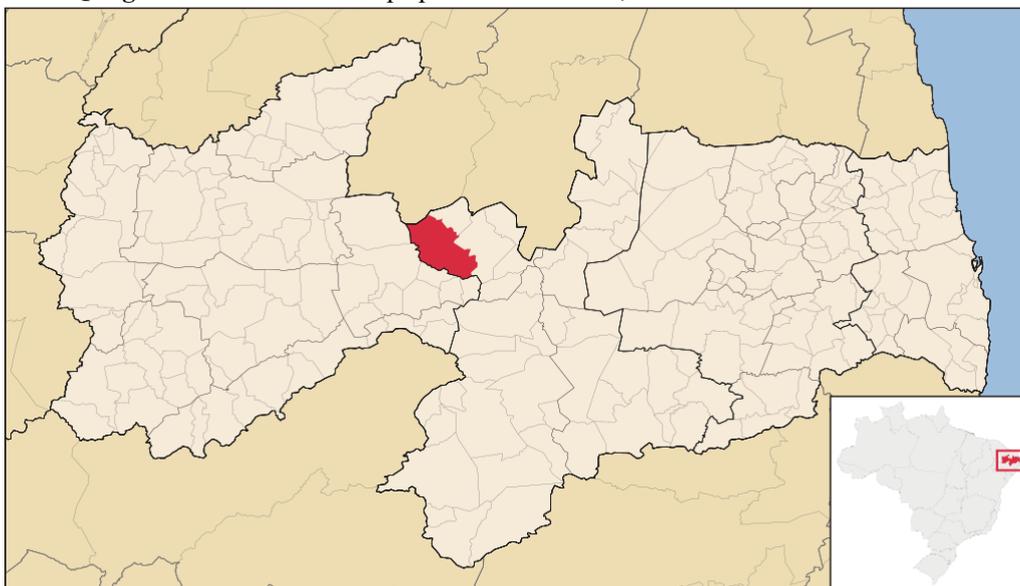
## METODOLOGIA

### COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO E IDENTIFICAÇÃO

Para este trabalho, foram utilizadas as cascas do caule de *C. pyramidalis*, coletadas no Sítio Exú, localizado nos domínios da cidade de São Mamede (6°55'37.0"S 37°05'45.0"W), inserida na mesorregião do Seridó ocidental do estado da Paraíba, Brasil (Figura 2). A área possui 40 hm<sup>2</sup> de mata de caatinga, sendo utilizada para a criação de rebanhos.

A coleta aconteceu no mês de abril do ano de 2017 e a identificação da espécie foi feita através de guias de campo e posteriormente, por especialistas do Herbário CSTR. Um espécime foi depositado como exsicata no Herbário CSTR da Universidade Federal de Campina Grande, e tombada sob o número 6757 CSTR.

**Figura SEQ Figura \\* ARABIC 2:** Mapa político da Paraíba, com a cidade de São Mamede em destaque.



**Fonte:** <https://commons.wikimedia.org>

As cascas foram coletadas do caule de cinco exemplares de *C. pyramidalis*, escolhidos aleatoriamente, sendo retiradas a partir de 1 m. de altura em relação ao solo. Após a coleta, as cascas foram deixadas para secar na sombra e a temperatura ambiente durante 7 dias.

O material seco foi, então, triturado em moedor elétrico (Thomas Wiley Laboratory Mill Model 4) até a obtenção de um pó. Em seguida, o pó obtido foi peneirado em uma peneira com tecido de malha de organza para obtenção de um pó mais fino e uniforme.

## PREPARAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS TESTES

Da forma como é utilizado pelas comunidades tradicionais para uso medicinal, é recomendado usar a proporção de 300g da entrecasca seca de *C. pyramidalis* para 500 mL de água (SILVA et al., 2015).

Esta concentração utilizada na medicina popular (300g/500mL=60%) foi tomada como ponto de referência para preparar as frações dos extratos aquosos (EA), utilizados neste experimento: 6g/1000 mL (0,6%), 6g/500 mL (0,12%) e 6g/100mL (6%).

No controle negativo foi utilizada água destilada e no controle positivo, uma solução de colchicina a 0,5%. Também foi aplicada no teste de germinação uma solução para testar a antimutagenicidade do extrato (colchicina a 0,5% mais a concentração de 6% de EA de *C. pyramidalis*).

## SISTEMA DE GERMINAÇÃO

As sementes de *A cepa* foram adquiridas em um centro comercial especializado em produtos agrícolas, na cidade de Campina Grande, Paraíba. Para este estudo, foram utilizadas sementes de *A. cepa* da variedade Vale Ouro IPA-11, lote com germinabilidade de 92% e pureza de 99%.

Para higienização das sementes foi utilizada uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1%. As sementes foram imersas nessa solução e agitadas cuidadosamente durante 5 minutos. Em seguida, foram enxaguadas 3 vezes com água destilada, e secas com papel de filtro esterilizado (BRASIL, 2009b).

O teste de germinação foi realizado segundo Sax e Sax (1968). A semeadura foi realizada em placas de Petri estéreis, sobre papel filtro umedecido com os controles negativo, positivo e as referidas concentrações do extrato aquoso de *C. pyramidalis*. Em cada placa foram colocados 5 mL de cada solução e em seguida elas foram tampadas e lacradas com papel filme.

As placas permaneceram sob condições controladas de temperatura e luminosidade. A temperatura foi ajustada para  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ , considerada uma das temperaturas ótimas para o crescimento de sementes de cebola da variedade IPA-11 (PINHEIRO et al., 2014), e o fotoperíodo foi de 12 horas com luz artificial.

O teste de germinação foi realizado em triplicata, com 25 sementes por placa de petri, ou seja, 18 placas para os 6 tratamentos, durante um total de cinco dias (120 horas) no Laboratório de Citogenética e Biologia Molecular, na UFCG do campus de Patos.

#### PARÂMETROS AVALIADOS

Para a avaliação da toxicidade da *C. pyramidalis*, foram levados em consideração o percentual de germinação (%G), o tempo médio de germinação (TMG), a velocidade média de germinação (VMG), o comprimento radicular (mm), o índice de crescimento relativo (ICR) e o índice de germinação (IG). Além de terem sido observadas anomalias na morfologia das radículas, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009a).

O índice de crescimento relativo (ICR), é expresso pela equação  $ICR = CRA / CRC$ , onde ICR é o índice de crescimento relativo, CRA é o crescimento radicular da amostra e CRC é o crescimento radicular do controle negativo. Também foi calculada a Inibição Relativa do crescimento (IR), utilizando a equação  $IR = 100 - (ICR * 100)$ , onde ICR é o Índice de Crescimento Relativo.

Já o índice de germinação (IG) é calculado pela equação  $IG = ICR \times (SGA / SGC) \times 100$ , onde IG é o índice de germinação, ICR é o índice de crescimento relativo, SGA é o total de sementes germinadas na amostra e SGC é o total de sementes germinadas no controle negativo (TAM; TIQUIA, 1994).

Foram realizadas contagens diárias das sementes germinadas nos tempos de 24h, 48h, 72h, 96h e 120h para a obtenção dos índices de percentual de germinação, tempo médio de germinação (TMG), e velocidade média de germinação (VMG). Já para calcular o ICR e IG, foram realizadas as contagens apenas no tempo de 120h.

Foram consideradas germinadas apenas as sementes em que a radícula foi detectada. Os aspectos morfológicos das radículas foram registrados com o auxílio de uma câmera fotográfica digital com 12 megapixels.

Foram colhidas amostras aleatoriamente de 10 radículas de cada placa de Petri de cada réplica de cada tratamento, e as radículas foram medidas com o auxílio de um paquímetro digital com precisão de 0,1mm.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os cálculos de percentual de germinação (%G), Tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG) foram realizados a partir do software GerminaQuant® (MARQUES et al., 2015).

Já o ICR, o IG, a IR e a médias das anomalias foram calculados com o auxílio do software Microsoft Office Excel® 2016, seguindo a metodologia proposta por (TAM; TIQUIA, 1994).

Os dados foram submetidos aos testes de Kolmogorov–Smirnov e Shapiro-Wilk para análises da normalidade, ANOVA, aos pós-testes de Fisher (LSD) e de Dunn e a uma análise de regressão linear e correlação com o auxílio do software GraphPad Prism® 7.0.

## RESULTADOS

### GERMINAÇÃO DE SEMENTES

Os extratos não apresentaram influência sobre a germinação das sementes de *A. cepa*, pois não houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos quanto a porcentagem de germinação (60-80%), tempo médio de germinação (três dias) e velocidade média de germinação (0,3 dias), quando comparados ao controle negativo (Tabela 1).

**Tabela 1:** Valores da porcentagem de germinação (%G), tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG) entre as os controles e concentrações e seus respectivos desvios padrões.

	CN		0,6%		0,12%		6%		CP		AM	
%G	76,0 ±	10,6	61,3 ±	9,2	84,0 ±	10,6	77,3 ±	4,6	85,3 ±	8,3	85,3 ±	9,2
TMG	2,9 ±	0,4	3,6 ±	0,5	3,1 ±	0,4	3,1 ±	0,0	3,0 ±	0,1	3,0 ±	0,4
VMG	0,3 ±	0,0	0,3 ±	0,0	0,3 ±	0,0	0,3 ±	0,0	0,3 ±	0,0	0,3 ±	0,0

Fonte: os autores

Somente foi observada relação entre o tempo e a porcentagem de germinação através do teste de regressão linear na concentração de 0,6% ( $R=0,8232$ ,  $Y=0,0373 \cdot X+0,3175$ ), nas demais concentrações e controles não foram encontradas evidências desta relação.

Entretanto, foram encontradas evidências de uma forte correlação negativa entre a porcentagem de germinação e a velocidade média de germinação ( $R=-0,977$ ) e forte correlação positiva entre a porcentagem de germinação e o tempo médio de germinação ( $R=0,976$ ). Demonstrando que com o passar do tempo do experimento houve um decréscimo na VMG e

um acréscimo no TMG. De fato, foi observado um ótimo nível de germinação ao redor do terceiro dia.

Para Oliveira et al. (2015), o extrato de folhas de *C. pyramidalis* apresenta efeito alelopático no desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* (alface). Os autores apontam que os extratos também não tiveram efeitos significativos na germinação das sementes de *L. sativa*, porém, reduziram o comprimento radicular de plântulas, nas maiores concentrações dos extratos de *C. pyramidalis*, tanto brutos quanto diluídos, seguindo uma curva de dose-resposta.

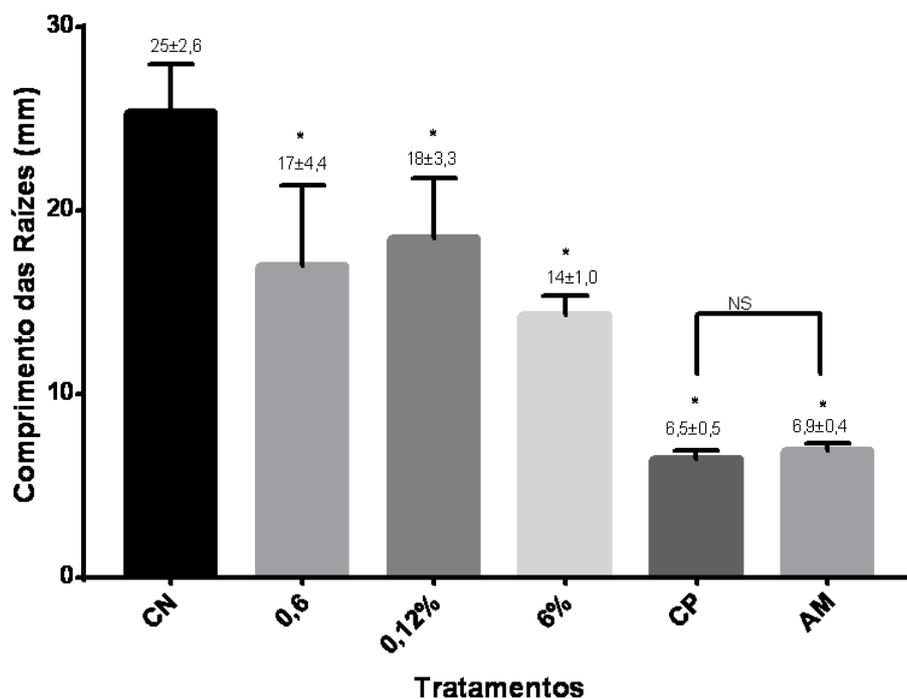
Segundo Ferreira e Aquila (2000), os testes de germinação são menos sensíveis na detecção de substâncias alelopáticas, quando comparados àqueles que levam em consideração o desenvolvimento de plântulas, através dos parâmetros de crescimento radicular.

#### COMPRIMENTO DE RADÍCULAS

Quanto ao comprimento das radículas, os extratos de *C. pyramidalis* em todas as concentrações mostraram-se significativamente tóxicos perante a *A. cepa*, interferindo no crescimento médio radicular das sementes tratadas com os extratos (Figura 3).

A média do crescimento das radículas do controle AM, (colchicina e EA a 6%) foi um pouco maior que a média do comprimento das radículas tratadas apenas com colchicina (CP), porém não foi um aumento estatisticamente significativo.

**Figura 3:** Gráfico da média do crescimento radicular de *Allium cepa* em função da exposição aos extratos de *Caesalpinia pyramidalis* nas concentrações de 0,6% (6g/1000mL), 0,12% (6g/500mL) e 6% (6g/100mL). Controle negativo (CN); controle positivo (CP); controle antimutagênico (AM); não significativo (NS).  
 \*= $p < 0,0001$ .



Fonte: os autores

A análise dos dados demonstrou que todos os tratamentos passaram no teste de normalidade de Kolmogorov–Smirnov, sendo possível realizar a análise de variância (ANOVA) seguida do teste da LSD de Fisher, que confirmou diferenças estatisticamente significativas entre todos os tratamentos em relação ao controle negativo, e que não houve diferença significativa entre o controle positivo e o controle AM, indicando que houve toxicidade dos extratos, mas não houve efeito antimutagênico do extrato na concentração testada (6%), ou seja, o extrato potencializou o efeito mutagênico da colchicina.

Silva et al. (2015) relataram a citotoxicidade de extratos aquosos da entrecasca de *C. pyramidalis* em duas concentrações diferentes (0,2% e 0,1%) e em dois tempos de exposição (24h e 48h); que mostraram efeito antiproliferativo, afetando o ciclo mitótico das células meristemáticas de bulbos de *A. cepa* já na menor concentração e menor tempo de exposição. Os resultados para genotoxicidade não foram significativos, entretanto, a *C. pyramidalis* mostrou potencial antimutagênico frente ao paracetamol, utilizado como controle positivo.

O índice de germinação (IG) e o índice de crescimento relativo (ICR) também apontam para a toxicidade da *C. pyramidalis*, tendo em vista que valores de  $IG \geq 80\%$  indicam a ausência de substâncias fitotóxicas, e que valores abaixo desse número indicam a presença de substâncias

inibidoras de crescimento (TAM; TIQUIA, 1994; YOUNG et al., 2012; COSTA, 2015). Deste modo, pode-se afirmar a existência de compostos tóxicos no extrato aquoso da *C. pyramidalis* em todas as concentrações testadas. Os valores de ICR, IG e IR são mostrados na tabela 4.

**Tabela 2:** Valores do Índice de crescimento relativo (ICR) do índice de germinação (IG) e da inibição relativa do crescimento (IR) das sementes de *Allium cepa* em função das concentrações de 0,6%, 0,12% e 6% do extrato aquoso da casca de *Caesalpinia pyramidalis*.

Concentrações	Média do crescimento de radículas (mm)	ICR	IG (%)	IR (%)
CN	25,00 ± 2,6	1	100	-
0,6%	17,00 ± 4,4	0,68	54,87	32
0,12%	18,00 ± 3,3	0,72	79,58	28
6%	14,00 ± 1,0	0,56	56,97	44

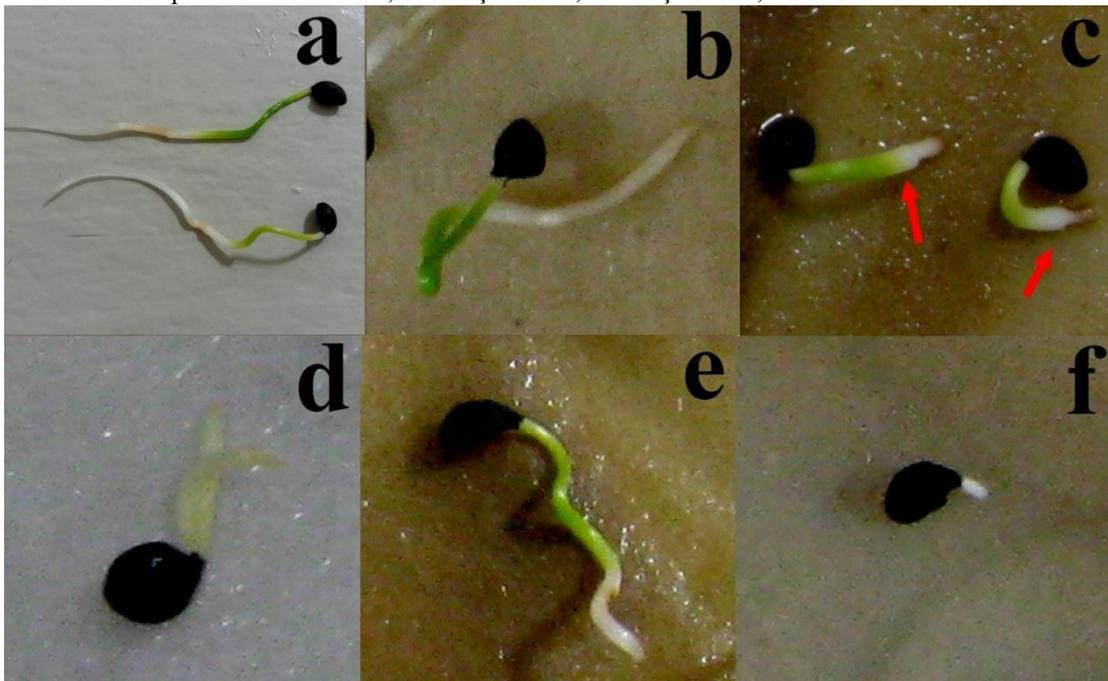
**Fonte:** os autores

Além de influenciar negativamente a média de crescimento das radículas de *A. cepa*, os extratos também causaram anormalidades na morfologia das radículas. Foram observadas anomalias como: radículas retorcidas, curtas, com protuberâncias próximo às extremidades, ondulações e bifurcações (Figuras 4 e 5).

As substâncias são citotóxicas quando são capazes de causar danos nas células como um todo, ou reduzir a sua taxa de crescimento. Deste modo, reduções no crescimento de raízes são um indicativo de citotoxicidade e as anomalias macroscópicas são de genotoxicidade (MOREIRA et al., 2014). É importante salientar que as alterações no crescimento vistas macroscopicamente apenas refletem externamente os problemas nos processos de divisão celular (IGANCI, et al., 2006). Deste modo, as anomalias observadas nas radículas sugerem processos genotóxicos.

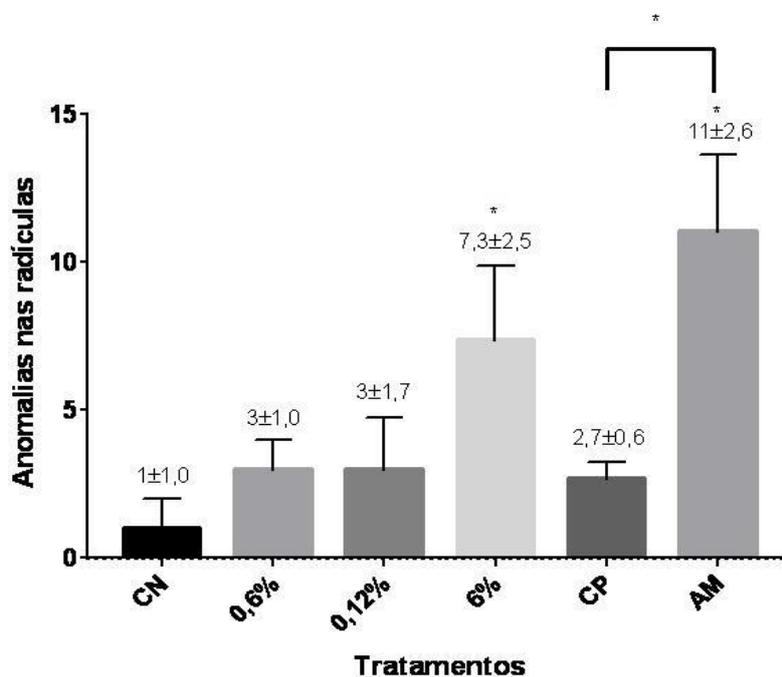
Os efeitos tóxicos só se manifestam em organismos se o agente tóxico alcançar locais específicos do organismo, em concentrações e tempo suficientes para produzir algum tipo de efeito (MACEDO et al., 2014). Conseqüentemente, resultados positivos no teste de *Allium cepa* devem ser considerados como um alerta e também um indicativo de que o extrato testado pode ser um risco à saúde dos organismos expostos (FISKESJÖ, 1985).

**Figura 4:** Anomalias encontradas nas radículas de *A. cepa*. Raízes normais em **a**, retorcidas em **b**, protuberâncias em **c**, bifurcação em **d**, ondulação em **e**, radícula curta em **f**.



Fonte: os autores

**Figura 5:** Médias das anomalias radiculares observadas em todos os tratamentos.  $*=p<0,0001$



Fonte: os autores

Esses resultados atentam para o cuidado no uso indiscriminado de plantas medicinais. Apesar de ser uma espécie de uso comum e consolidado entre as pessoas, a *C. pyramidalis* também pode ser a causadora de efeitos adversos. A importância do teste de citotoxicidade em

*A. cepa*, reside no fato de que ele faz um primeiro screening de toxicidade com confiabilidade e serve de alerta para os riscos que os fatores químicos são capazes de apresentar à saúde humana (BELCAVELLO et al., 2012).

A causa mais provável dos efeitos adversos apresentados pelo extrato da *C. pyramidalis* é a presença das diferentes classes de metabólitos secundários. Estes possuem, sobretudo, função no aparato de defesa desses organismos, agindo contra a herbivoria, parasitismo e até competição entre outras espécies de vegetais, caso da alelopatia.

Desta maneira, se fazem necessários estudos complementares, com diferentes concentrações, solventes e em diferentes organismos, bem como avaliar diferentes tempos de exposição, a fim de investigar os efeitos a curto e longo prazo dessa exposição.

Vale salientar que o estudo da toxicidade em plantas medicinais é apenas uma das várias etapas na investigação da química por trás das plantas de interesse econômico, especialmente as medicinais, para que o consumo destas seja feito com segurança e os riscos sejam minimizados, fazendo-se uma integração com diversas áreas de estudo (bioquímica, farmacologia, medicina, etc), tendo em vista que a própria indústria farmacêutica ainda busca na natureza, sobretudo nas espécies vegetais, compostos e princípios ativos para a fabricação de medicamentos sintéticos e fitoterápicos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato aquoso de *Caesalpinia pyramidalis* foi tóxico às células de *Allium cepa* em todas as concentrações testadas, afetando negativamente a média de crescimento radicular. Contudo, não influenciaram a porcentagem, tempo médio nem a velocidade de germinação das sementes do organismo teste. Os extratos também causaram anomalias no crescimento das radículas. As anomalias observadas nas radículas durante o seu crescimento sugerem processos genotóxicos. O extrato na concentração de 6% não apresentou efeito mutagênico, porém, potencializou o efeito mutagênico da colchicina.

A ação tóxica da planta pode ser explicada pela presença de diferentes substâncias resultantes do metabolismo secundário, todavia, estudos adicionais são necessários para determinar com maior precisão quais compostos possuem atividade tóxica e em que níveis de concentração, para que esta seja consumida com segurança e cumpra seus fins medicinais sem riscos à saúde humana.

## REFERÊNCIAS

- AGRA, M. de F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p.472-508, 2008.
- ALBUQUERQUE, U. P. de et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p.325-354, 2007.
- ALMEIDA, C. de F. C. B. R. de; ALBUQUERQUE, U. P. de. Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): Um estudo de caso. **Interciencia**, v. 27, n. 6, p.276-285, 2002.
- AMOROZO, M. C. de M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 2, p.189-203, 2002.
- BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F. da; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p.444-447, 2007.
- BAHIA, M. V. et al. Biflavonoids and other phenolics from *Caesalpinia pyramidalis* (Fabaceae). **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p.1402-1405, 2005.
- BAHIA, M. V. et al. Efeitos de agathisflavonas de *Caesalpinia pyramidalis* sobre a viabilidade e proliferação de células. In: 28ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 28., 2005, Poços de Caldas - Mg. **Anais...** Poços de Caldas - MG: -, 2005. p. 1-1.
- BAHIA, M. V. et al. Outros Biflavonoides de *Caesalpinia pyramidalis*. In: 29ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 29., 2006, Águas de Lindóia - Sp. **Anais PN-210**. Águas de Lindóia - SP: -, 2006. p. 1-2.
- BARBOSA, M. R. de V. et al. Vegetação e Flora no Cariri Paraibano. **Oecol Bras**, v. 3, n. 11, p.313-322, 2007.
- BELCAVELLO, L. et al. Citotoxicidade e danos ao DNA induzidos pelo extrato de *Zornia diphylla*, uma planta medicinal. **Natureza On Line**, v. 10, n. 3, p.140-145, 2012.
- BEWLEY, J. D. Seed Germination and Dormancy. **The Plant Cell Online**, v. 9, n. 7, p.1055-1066, 1997.
- BORGES-DOS-SANTOS, R. R. et al. Biological Effect of Leaf Aqueous Extract of *Caesalpinia pyramidalis* in Goats Naturally Infected with Gastrointestinal Nematodes. **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine**, v. 2012, p.1-6, 2012.
- BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará**. 2. ed. Fortaleza: Centro de Divulgação Universitária, 1960. 975 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de análise sanitária de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009b. 200 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009a. 399 p.

CAMPAROTO, M. L. et al. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. **Sociedade Brasileira de Genética**, v. 25, n. 1, p.85-89, 2002.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG, J. W. The number of known plant species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, n. 3, p.201-217, 2016.

CONSTANTIN, M. J.; OWENS, E. T. Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays: A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, v. 99, p.1-12, 1982.

COSTA, A. S. V. da et al. Identificação de Substâncias Secundárias Presentes em Leguminosas Utilizadas Como Adubo Verde. **Revista Ceres**, v. 42, n. 244, p.584-598, 1995.

COSTA, E. de L. **Análise toxicológica, citotóxica e mutagênica de extratos aquosos de *Aspidosperma pyrifolium* (Apocynaceae)**. 2015. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Produção Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró-RN, 2015.

COSTALONGA, S. A. P. **Avaliação dos efeitos alelopáticos e mutagênicos de formas extrativas de *Passiflora edulis* Sims por meio do bioensaio *Allium cepa***. 2009. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2009.

CRUZ, M.C.S. et al. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p.409-412, 2007.

DAMASCENO, M. M. **Composição bromatológica de forragem de espécies arbóreas da caatinga paraibana em diferentes altitudes**. 2007. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2007.

FABACEAE. **Flora do Brasil 2020 em construção**: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 9 jun. 2017.

FABRICANTE, J. R. et al. Análise populacional de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae Lindl.) na caatinga da região do Seridó nordestino. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 3, p.285-290, 2009.

FABRICANTE, J. R.; ANDRADE, L. A. de. Análise Estrutural de um Remanescente de Caatinga no Seridó Paraibano. **Oecol Bras**, v. 3, n. 11, p.341-349, 2007.

FACHINETTO, J. M. et al. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p.49-54, 2007.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p.175-204, 2000.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p.99-112, 1985.

FLORES, A. V. et al. Atividade enzimática durante a germinação de sementes de *Melanoxylon brauna* schott sob diferentes temperaturas. **Cerne**, v. 20, n. 3, p.401-408, 2014.

FRANÇA, I. S. X. de et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p.201-208, 2007.

GAO, T. et al. Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode ITS2. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 1, p.116-121, 2010.

IGANCI, J R V et al. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 1, p.79-82, 2006.

KWANKUA, W. et al. Sunlight decreased genotoxicity of azadirachtin on root tip cells of *Allium cepa* and *Eucrosia bicolor*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p.949-954, 2010.

LEE, T. K. et al. Lupeol Suppresses Cisplatin-Induced Nuclear Factor- B Activation in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Inhibits Local Invasion and Nodal Metastasis in an Orthotopic Nude Mouse Model. **Cancer Research**, v. 67, n. 18, p.8800-8809, 2007.

LEITE, A. V.; MACHADO, I. C. Biologia reprodutiva da “catingueira” (*Caesalpinia pyramidalis* Tul., Leguminosae-Caesalpinioideae), uma espécie endêmica da Caatinga. **Revista Brasil. Bot.**, v. 32, n. 1, p.79-88, 2009.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/reviews In Mutation Research**, v. 682, n. 1, p.71-81, 2009.

LEVAN, A. The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*. **Hereditas**, v. 24, n. 4, p.471-486, 1938.

LIMA, A. L. de. **Produção de brotos de Fabaceae para o consumo humano**. 2006. 128 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2006.

LIMA, D. de A. **Plantas das Caatingas**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1989.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa - SP: Instituto Plantarum, 2009. 384 p.

LORENZI, H. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 2. ed. Nova Odessa - SP: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

MACEDO, J. F. M. et al. Estudo da genotoxicidade do extrato de *Abelmoschus esculentus* (Quiabo) pelo teste *Allium cepa*. **Revista Saúde em Foco**, v. 1, n.1, art. 2, p. 15-28, 2014.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p.429-438, 2002.

MARQUES, F. R. F. et al. GerminaQuant: A new tool for germination measurements. **Journal Of Seed Science**, v. 37, n. 3, p.248-255, 2015.

MELO, I. R. B. V. de et al. The pollen of *Caesalpinia pyramidalis* Tul. is toxic to honeybees (*Apis mellifera*). **Arthropod-plant Interactions**, v. 7, n. 4, p.463-466, 2013.

MENDES, C.C. et al. Constituents of *Caesalpinia pyramidalis*. **Fitoterapia**, v. 71, n. 2, p.205-207, 2000.

MORAIS, S. M. de et al. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p.169-177, 2005.

MOREIRA, T. C. et al. Avaliação da toxicidade e da genotoxicidade da ivermectina e da deltametrina através de bioensaio com *Allium cepa*. **Revista Científica da Faminas**, v. 9, n. 1, p.25-40, 2014.

OLIVEIRA, A. S. L. de et al. Extratos de juazeiro e catingueira são alelopáticos às plântulas de alface? **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer**, v. 11, n. 21, p.230-242, 2015.

OLIVEIRA, J. C. S. de. **Estudo químico e avaliação biológica do extrato das cascas das raízes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae)**. 2010. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

OLIVEIRA, R. L. C. de et al. Conservation priorities and population structure of woody medicinal plants in an area of caatinga vegetation (Pernambuco State, NE Brazil). **Environmental Monitoring And Assessment**, v. 132, n. 1-3, p.189-206, 2007.

OLIVEIRA, T. dos R. de et al. Enzimas, inibidores de proteases e atividade antibacteriana de extratos aquosos de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Enciclopédia Bioesfera**, v. 10, n. 18, p.3250-3261, 2014.

PEÇANHA, E. P.; ANTUNES, O. A. C.; TANURI, A. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p.1108-1116, 2002.

PINHEIRO, G. S. et al. Efeito da temperatura sobre a germinação de sementes de cebola. **Scientia Plena**, v. 10, n. 11, p.1-6, 2014.

QUEIROZ, L. P. de. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana: Royal Botanic Gardens, Kew: Associação Plantas do Nordeste, 2009. 443 p.

RATHNASAMY, S. et al. Evaluation of cytotoxic, mutagenic and antimutagenic potential of leaf extracts of three medicinal plants using *Allium cepa* chromosome assay. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 2, n. 8, p.131-140, 2013.

RÊGO JÚNIOR, N. O. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos brutos de espécies vegetais da caatinga. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v. 14, n. 01, p.50-57, 2011.

RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. **Botânica Econômica Brasileira**. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária; Editora da Universidade de São Paulo, 1976. 207 p.

SANTANA, D. G. et al. Beneficial effects of the ethanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* on the inflammatory response and abdominal hyperalgesia in rats with acute pancreatitis. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 142, n. 2, p.445-455, 2012.

SANTOS, C. A. dos. **Estudo farmacológico do extrato etanólico da entrecasca da *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae)**. 2010. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2010.

SANTOS, M. L. O. et al. Estudo do efeito radioprotetor do extrato metanólico de *Caesalpinia pyramidalis* sobre células embrionárias de *Biomphalaria glabrata*. **Scientia Plena**, v. 9, n. 9, p.1-7, 2013.

SARAIVA, A. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e perfil fitoquímico de *Caesalpinia pyramidalis* tull. (Fabaceae). **Biofar**, v. 7, n. 2, p.52-60, 2012.

SAX, K.; SAX, H. J. Possible mutagenic hazards of some food additives, beverages and insecticides. Japan. J. **Genetics**, v. 43, n. 2, p.89-94, 1968.

SILVA, A. C. O. da; ALBUQUERQUE, U. P. de. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p.17-26, 2005.

SILVA, C. H. T. P. da et al. Phytochemical profile and antibacterial activity of bark and leaves of *Caesalpinia pyramidalis* Tul. and *Sapium glandulosum* (L.) Morong. **Journal Of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 32, p.4766-4771, 2012.

SILVA, D. O. da. **Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e de características fenológicas e físico-químicas da planta *Pereskia aculeata***. 2017. 92 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

SILVA, F. D. B. da et al. Potencial citotóxico, genotóxico e citoprotetor de extratos aquosos de *Caesalpinia pyramidalis* Tul., *Caesalpinia ferrea* Mart. e *Caesalpinia pulcherrima* Sw. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 2, p.101-109, 2015.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. da. Aspectos Nutricionais de Fitatos e Taninos. **Revista de Nutrição**, v. 1, n. 12, p.5-19, 1999.

SILVA, T. dos S. et al. Multiplicação in vitro de *Caesalpinia pyramidalis* (Leguminosae). **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 13, p.1-6, 2013.

SOUZA V. C.; LORENZI H. Botânica Sistemática - Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Plantarum, 2008

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TAM, N. F. Y.; TIQUIA, S. Assessing toxicity of spent pig litter using a seed germination technique. **Resources, Conservation And Recycling**, v. 11, p.261-274, 1994.

VICENTINI, V. E. P. et al. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and animal test systems. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p.593-598, 2001.

YOUNG, B. J. et al. Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 76, p.182-186, 2012.

ZANIN, João L. Baldim et al. The Genus *Caesalpinia* L. (Caesalpiaceae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics. **Molecules**, v. 17, n. 12, p.7887-7902, 29 jun. 2012.

ZANINE, A. de M. et al. Composição bromatológica de leguminosas do semi-árido brasileiro. **Livestock Research For Rural Development**, v. 17, n. 87, p.1-4, 2005.

# CAPÍTULO 23

## ESTUDO ETNOBOTÂNICO ACERCA DO USO MEDICINAL DE *Moringa oleifera* L. POR MORADORES DO SÍTIO SOLEDADE, AURORA – CE/BRASIL

**Ranielly Ferreira de Sousa**, Graduada em Ciências Biológicas,  
UFCG

**Letícia Carvalho Benitez**, Doutora em Fisiologia vegetal, UFCG

### RESUMO

O uso de plantas com princípios bioativos medicinais é uma prática milenar que, apesar dos avanços tecnológicos da indústria farmacêutica, ainda hoje é utilizada e passada entre as gerações, principalmente na zona rural. *Moringa oleifera* L. é conhecida pelo seu potencial medicinal e nutricional presente em todas as partes morfológicas da planta. A presente pesquisa teve por objetivo central realizar um estudo etnobotânico acerca do uso medicinal de *Moringa oleifera* L. por moradores do sítio Soledade, município de Aurora- CE/Brasil. Trata-se de um estudo com caráter quali-quantitativo, cujo procedimento técnico é referente a uma pesquisa de levantamento de dados. Ao todo, 141 moradores locais participaram da coleta de dados realizada mediante visitas domiciliares com a utilização de um questionário estruturado. As questões abordadas foram de cunho socioeconômico e relacionadas à utilização da medicina popular e conhecimento/uso medicinal da Moringa. Como principal resultado constatou-se a pouca utilização da espécie pela comunidade estudada, tendo em vista que 41% da população a conhece, mas apenas 18% conhecem seus benefícios e, destes, 6% mencionaram utilizá-la como medicinal. Simultaneamente à aplicação do questionário foi entregue aos participantes um folheto contendo as principais utilizações nutricionais e medicinais desta planta, juntamente com suas sementes. Tais ações contribuíram para a disseminação de informações sobre a Moringa para a saúde humana, desde que utilizada corretamente, além de incentivar seu cultivo local.

**PALAVRAS-CHAVE:** Conhecimento tradicional, Moringa, plantas medicinais.

### INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade as plantas são utilizadas pelo ser humano para diversas finalidades, seja como alimento, para produzir calor, para abrigar-se, na construção, como ornamento ou para assegurar a saúde através de suas atividades terapêuticas. Esses conhecimentos são adquiridos e transferidos, inicialmente, entre gerações de forma empírica e verbal, caracterizando-se como um dos principais ramos da Etnobotânica (LORENZI; MATOS, 2008).

A Etnobotânica pode ser caracterizada como uma ciência que estuda as sociedades humanas e suas interações ecológicas, genéticas, evolutivas, simbólicas e culturais com as plantas (FONSECA-KRUEL; PEIXOTO, 2004). Essa ciência pode ser considerada um

instrumento que resgata o conhecimento popular adquirido no que diz respeito aos vegetais, principalmente em relação às suas propriedades medicinais (BRASILEIRO et al., 2008).

Os estudos etnobotânicos são extremamente importantes no Brasil, já que seu território abriga uma das mais ricas floras do mundo e, em sua complexa biodiversidade, existe uma variabilidade de plantas que são utilizadas pelas populações para o tratamento de diversas enfermidades, tanto de seres humanos quanto de animais domésticos (ZUCCHI et al., 2013).

A medicina popular no Brasil não se restringe somente a comunidades indígenas ou quilombolas, mas inclui outras comunidades, como os moradores da zona rural (DISTASI, 2007). Nesta perspectiva, investigar os conhecimentos empíricos de comunidades rurais sobre o uso de recursos naturais pode contribuir com muitas pesquisas e descobertas acadêmicas (CALIXTO; RIBEIRO, 2004). Os estudos científicos realizados nessa área, além de valorizar os saberes tradicionais e uso popular de plantas medicinais, auxiliam na melhor maneira de usufruir das propriedades ali presentes, evitando o uso indiscriminado (RICARDO, 2010).

Entre as plantas medicinais que podem ser encontradas atualmente no Brasil, *Moringa oleífera* Lamarck, conhecida popularmente como o Lírio-branco, Cedro ou Moringa, vem recebendo destaque cada vez maior devido às vastas aplicações nutricionais e medicinais que são atribuídas às suas raízes, cascas, folhas, flores, frutos e sementes (MACEDO et al., 2010). Trata-se de uma planta arbórea pertencente à família Moringaceae, originária da zona dos Himalaias, do norte da Índia, mas que hoje em dia encontra-se disseminada por muitos países tropicais e subtropicais, sendo cultivada na África, América do Sul, Centro, Sudeste e Sul Asiático, Arábia e nas Ilhas do Pacífico (FRIGHETTO et al., 2007).

Dentre suas propriedades destaca-se a utilização no tratamento de água, pois suas sementes possuem polissacarídeos com forte poder aglutinante, permitindo a clarificação por floculação e sedimentação, além da purificação por suas ações antimicrobianas (GALLÃO et al., 2006). Conforme Lalas; Tsaknis (2002), as sementes apresentam cerca de 40 % de óleo, podendo ser usado em cosméticos com a função de auxiliar no antienvhecimento e no fortalecimento dos cabelos. Na medicina, atua como cicatrizante, protege os ossos, combate a caspa, inibe bactérias, atua no tratamento de assaduras, picada de inseto e micoses (BARRETO et al., 2005).

Além das aplicações acima mencionadas, *M. oleífera* é muito utilizada de forma empírica na medicina popular de várias culturas para dor de cabeça, tratamento de hemorroidas,

febre, dor de garganta, bronquite, infecções de ouvido, escorbuto e catarro (ROLIM et al., 2016). Devido a isto, desde o início da década de 90, esta espécie vem sendo alvo de pesquisas científicas, muitas delas impulsionadas pelos conhecimentos empíricos, que buscam investigar suas propriedades e auxiliar no seu uso correto nas indústrias cosmética, alimentícia e farmacêutica.

Deste modo, a presente pesquisa teve por objetivo central realizar um estudo etnobotânico acerca do uso medicinal de *Moringa oleífera* L. por moradores do sítio Soledade, município de Aurora- CE/Brasil. O estudo partiu do pressuposto que uma porcentagem significativa da população amostral da pesquisa (mais de 50 %) conhece e faz ou já fez uso de *M. oleífera* como tratamento alternativo para problemas de saúde, baseando-se no senso comum adquirido.

## MATERIAL E MÉTODOS

### ÁREA DE ESTUDO

O município de Aurora está situado na mesorregião do sul do Estado do Ceará (38°58'03" de longitude oeste e 06°56'33" de latitude sul) (Figura 1), com população estimada de 24.654 mil habitantes e área de 885,827 km<sup>2</sup> de extensão (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE], 2019). A vegetação local é bastante diversificada, apresentando domínios de cerrado, cerrado e caatinga. A região possui quatro distritos: Aurora (sede), Ingazeiras, Tipi e Santa Vitória, incluindo diversas localidades, dentre elas o sítio Soledade, localizado a 32 km da sede, fazendo divisa com o estado da Paraíba e possuindo cerca de 220 habitantes.

**Figura 1:** Localização de Aurora no Ceará/Brasil



FONTE: Raphael Loenzeto Abreu, 2006

## CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA

De acordo com Gil (2002), do ponto de vista de sua natureza, trata-se de uma pesquisa básica, pois objetiva gerar conhecimentos novos e úteis para o avanço da ciência sem aplicação prática prevista. Quanto à forma de abordagem do problema, o trabalho tem caráter qualiquantitativo. Com base nos objetivos, o estudo pode ser classificado como descritivo, visto que este tipo de pesquisa visa descrever as características de determinada população envolvendo a utilização de técnicas padronizadas de coleta de dados, portanto o procedimento técnico é referente a uma pesquisa de levantamento.

## CÁLCULO DE AMOSTRAGEM, COLETA E ANÁLISE DE DADOS

Para determinar a população amostral da pesquisa, utilizou-se a fórmula estatística abaixo.

$$\text{Tamanho da amostra} = \frac{\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2}}{1 + \left(\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2 N}\right)}$$

Onde:

N - Tamanho da população

e - Margem de erro (porcentagem no formato decimal)

z - Escore z

**p - Verdadeira probabilidade do evento**

Ao todo, 141 moradores participaram de pesquisa, os quais foram abordados aleatoriamente, sendo a única restrição quanto à idade (maiores de 18 anos). Os integrantes do estudo leram e preencheram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) elaborado de acordo com o modelo aprovado (Nº do parecer: 4.631. 596) pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Formação de Professores da Universidade Federal de Campina Grande (CFP/UFCG).

A coleta dos dados baseou-se na aplicação de um questionário estruturado, através de visitas domiciliares, contendo questões abertas e fechadas que abordaram os seguintes aspectos:

dados pessoais e de escolaridade, profissão, informações sobre a utilização da medicina popular, conhecimento e uso medicinal da *M. oleifera*, finalidades da sua utilização, órgão vegetal utilizado, indicações, modo de preparo, entre outros.

Os dados coletados foram analisados quali-quantitativamente e os resultados apresentados em gráficos ou de forma descritiva, de acordo com o tipo de questão formulada. Além disso, foram calculados os índices relacionados com o conhecimento dos participantes, valor de uso (PHILLIPS; GENTRY, 1993) e índice por parte da planta (GOMEZ-BELOZ, 2002). Tais índices permitem verificar como o conhecimento sobre a espécie estudada está distribuído na localidade e qual parte da planta foi mais usada na região, respectivamente. (Tabela 1).

**Tabela 1:** Índices baseados em técnicas de consenso do informante, calculados para determinar como a espécie foi reconhecida pelos moradores participantes

Índices	Cálculo	Descrição
Valor de uso $UVs = \sum UVis/n$	Número de usos que o informante conhece para a espécie (UVis), dividido pelo número total de informantes (n).	Medida da média do número de usos que o informante conhece para as espécies.
Índice por parte da planta (PPV)	Razão entre o número total de usos reportados para cada parte da planta e somatório de usos reportados para aquela planta	Indica diferença no número de usos das partes da planta e aponta a parte da planta mais utilizada

Fonte: Phillips; Gentry, 1993; Gomez-Beloz, 2002.

Simultaneamente à aplicação dos questionários foi entregue aos participantes um folheto contendo as principais utilizações nutricionais e medicinais desta planta, juntamente com suas sementes para que os moradores que não a cultivam passem a cultivar e desfrutar das propriedades nela presente de maneira apropriada e segura.

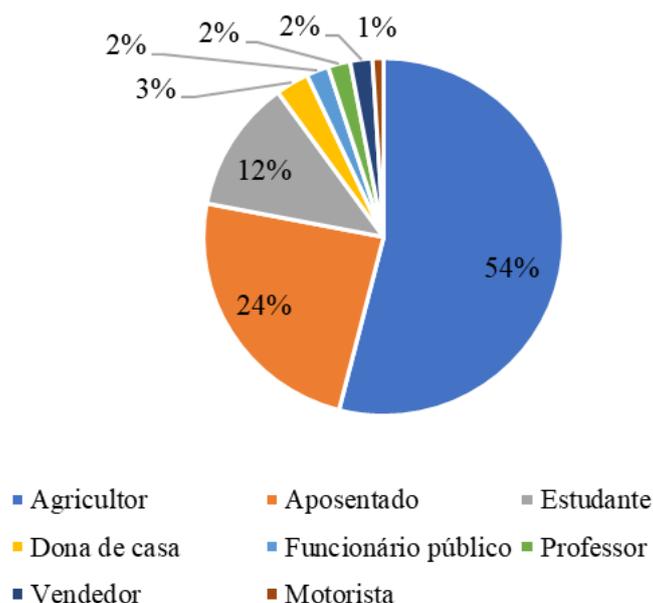
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O universo amostral da pesquisa foi composto por 141 pessoas, sendo 65 homens (46%) e 76 mulheres (54%), com idades que variam de 18 a 86 anos. A predominância de mulheres entrevistadas também foi observada por Calábria et al. (2008), os quais registraram 78,9% de mulheres e 21,1% de homens participantes de levantamento etnobotânico realizado em Indianópolis (MG). O predomínio de mulheres pode ser explicado pelo fato de que estas têm valor histórico e cultural no que concerne às atividades desempenhadas no lar, sendo responsáveis pelos cuidados com a saúde da família e o cultivo de hortas medicinais, enquanto o homem trabalha fora. Essa divisão de tarefas ainda é comum na zona rural, onde o

conservadorismo é bastante enraizado no que se refere à cultura e à instituição familiar (VIU et al., 2010).

Analisando as profissões dos participantes da pesquisa, foi constatado que 54% desses moradores são agricultores, 24% aposentados e 12% estudantes (Gráfico 1). Segundo Almeida; kudlavick (2011), a agricultura no meio rural é uma prática comum, responsável por complementar à renda familiar e garantir a subsistência nestas regiões.

**Gráfico 1:** Profissões exercidas por moradores do sítio Soledade, Aurora – CE/Brasil



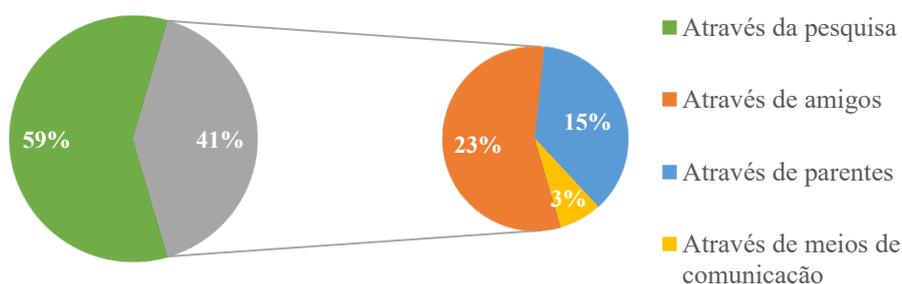
**Fonte:** Arquivo da autora

Quanto à utilização de plantas medicinais, 98% dos participantes afirmam que fazem uso, onde 15% usam com muita frequência, 59% com pouca frequência e 24% raramente utilizam, enquanto 2% dos participantes não fazem uso. De acordo com Piriz (2013), o uso de plantas medicinais ocorre por diversos fatores, como o fator natural, pois é considerado um instrumento de cura, além dos fatores cultural e econômico. Esta prática é comum à diversas comunidades, incluindo as comunidades rurais. Os números observados no presente estudo corroboram a pesquisa de Zambon et al. (2018), na qual observa-se que, no Brasil, 91,9% da população utiliza ou já utilizou plantas medicinais. Ainda, segundo Antônio et al. (2014), as observações populares e as investigações científicas sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas as informações terapêuticas acumuladas durante séculos.

Quando indagados sobre a forma de aprendizagem do uso de plantas medicinais, 91% dos moradores participantes ponderaram que essa prática foi indicada por familiares. Dentre as outras formas de aprendizagem citadas estão o ensinamento transmitido por vizinhos e indicação médica. Estes dados se assemelham com outros trabalhos, como o de Brasileiro et al. (2008), o qual relata que o conhecimento sobre espécies vegetais com potencial medicinal é proveniente da tradição familiar, oriundo de gerações anteriores e repassados para novas gerações. Em seu estudo, Gomes (2016), também constatou que tais utilizações provêm de compartilhamento de culturas familiares e indicações do convívio social.

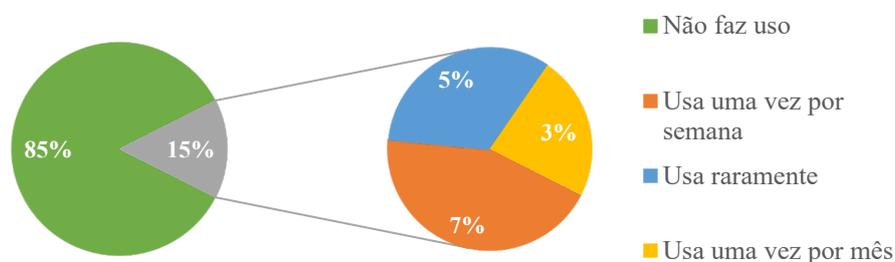
A maioria das perguntas do questionário tratava especificamente da planta *M. oleífera*, com isso, constatou-se que 59% dos participantes passou a conhecer a planta através desta pesquisa e 41% da população já conhecia, onde 23% obtiveram informações através de amigos (Gráfico 2). Porém, somente 15% dos que conhecem a planta fazem uso, nas frequências indicadas no Gráfico 3. Tais usos são para fins medicinais (13%) e nutricional (2%), sendo utilizadas, preferencialmente, as folhas (13%) e sementes (2%).

**Gráfico 2:** Conhecimento da planta *M. oleífera* por moradores do sítio Soledade, Aurora – CE/Brasil



**Fonte:** Arquivo da autora

**Gráfico 3:** Frequência de uso da planta *M. oleífera* por moradores do sítio Soledade, Aurora – CE/Brasil



**Fonte:** Arquivo da autora

Especificamente em relação às finalidades do uso medicinal da espécie em estudo, foram citadas: inflamação, inflamação e gripe, inflamação e anticancerígena, antiglicêmica, para labirintite e inflamação, gripe e dores, alimento e chás, limpeza da água (Tabela 2).

**Tabela 2:** Finalidade de uso medicinal de *M. oleífera* por moradores do sitio soledade, Aurora – CE/Brasil

Indicações	Número de informantes	% de citações	Parte da planta utilizada	Modo de preparo
Inflamação	3	34%	Folhas	Desidratação de folhas em forno, e posterior preparação de chás
Inflamação e gripe	1	11%	Folhas	Desidratação de folhas no sol, e posterior preparação de chás
Inflamação e anticancerígena	1	11%	Folhas	Utiliza na forma de chás, tanto as folhas secas, quanto frescas.
Inflamação, baixa a glicose e para labirintite	1	11%	Folhas	Desidratação de folhas em forno, e posterior preparação de chás
Gripe e dores	1	11%	Folhas	Preparação de chá, a partir de folhas frescas
Alimento e chás	1	11%	Folhas	Desidratação de folhas no sol, e posterior preparação de chás e utilização na alimentação
Limpeza de água	1	11%	Sementes	Trituração de sementes secas e adição em água poluída

Fonte: Arquivo da autora

Ao serem questionados sobre a predominância de uso da planta, 77% dos participantes acreditam que a predominância está entre os idosos, 6% acreditam estar entre os adultos e apenas 1% afirma que a predominância está entre os jovens, enquanto que 16% dos moradores não souberam informar. A tendência em acreditar que a predominância de uso está entre os idosos é observada em outros trabalhos, como o de Baptistel et al. (2014), o qual constatou que pessoas com mais idade fazem mais uso de plantas medicinais em relação aos mais jovens. Messias et al. (2015) também enfatiza que a idade se mostra como um fator importante no acúmulo de conhecimentos populares, já que as pessoas mais idosas apresentaram um acúmulo de informações superior, quando comparadas as mais jovens.

No tocante ao cultivo da *M. oleífera*, apenas 3% dos participantes da pesquisa o fazem. Os moradores que fazem uso e não possuem a planta em sua residência relataram que a obtém através de familiares, vizinhos e em comércio de produtos naturais. Para Vasconcelos (2013), há uma ampla distribuição desta planta no estado do Ceará. No entanto, foi possível observar que, especificamente, na comunidade estudada trata-se de uma planta com pouca distribuição. Porém, após a entrega das sementes, durante a aplicação do questionário, alguns moradores afirmaram que passarão a cultivar.

Quanto aos possíveis efeitos negativos desta planta para a saúde humana, apenas 1% dos moradores entrevistados acredita que pode haver malefícios caso o consumo seja exagerado, enquanto que 28% dos participantes acreditam que não há malefícios e 71% não souberam informar. Almeida (2018) concluiu, em seu estudo, que o uso de folhas de *M. oleífera* é seguro quando ingeridas oralmente e consumidos em baixas concentrações. Para o consumo humano, segundo o autor, recomenda-se a não ultrapassagem de dose diária de 70 gramas, pois doses superiores podem levar à acumulação de determinados compostos no organismo.

Sobre os possíveis efeitos positivos desta planta para a saúde humana, 82% não souberam informar, enquanto 18% acreditam que há sim benefícios, como mostra a Tabela 3.

**Tabela 3:** Finalidades de uso citada por participantes e cálculo do valor de uso

Finalidades citadas	Quantidade de informantes	UVs (valor de uso)
Inflamação, dor de cabeça, dor de barriga e gripe	1	0,142
Inflamação, gripe e dores	1	0,107
Anticancerígena, dor de urina e infecção	1	0,107
As folhas são bons alimentos, serve para dores e controla a diabetes	1	0,107
A casca serve para doenças intestinais e as folhas servem de alimentos	1	0,071
Alimentação e inflamação	1	0,071
Folhas melhora doenças de próstata e avitaminose em galinhas	1	0,071
Inflamação e gripe	1	0,071
Circulação e anticancerígena	1	0,071
Inflamação e dores	1	0,071
Folhas com bons nutrientes	1	0,035
As sementes limpas água poluída	3	0,035
As folhas auxiliam o emagrecimento	2	0,035
Folhas serve de alimentação	3	0,035
Chá das folhas controla a diabetes	1	0,035
Chá das folhas para inflamação	4	0,035
Anticancerígena	1	0,035
Suas folhas são cicatrizantes	1	0,035

Fonte: Arquivo da autora

Almeida (2018), apresentou amplas informações sobre as propriedades terapêuticas da *M. oleífera*, sendo elas, folhas ricas em nutrientes e atividades antioxidantes, auxílio no emagrecimento, no tratamento de diarreia, dores de estômago e diversas outras doenças intestinais, melhora nas doenças de próstata, antidiabética, anticancerígena, atividade cardiovascular, cicatrizante e antiviral.

Neste mesmo sentido, Rolim (2016), apresenta *M. oleífera* como uma planta com propriedades antimicrobiana, auxiliando nos tratamentos de infecções, anti-inflamatória e

analgésica. Já Ferreira et al. (2011) relevam a existência de uma atividade coagulante em suas sementes, sendo responsável pela agregação de partículas e microrganismos, tornando a água purificada. Júnior (2017), mostrou que as folhas de Moringa podem ser usadas como suplementos alimentares em galinhas poedeiras. Com isso, as finalidades de uso citadas pelos participantes estão em consonância com o conhecimento científico.

A partir dos dados obtidos foi calculado o Índice por Parte da Planta (PPV), através do qual verificou-se que as folhas são as partes com o maior valor (0,47), seguido das sementes e casca, ambos com mesmo valor (0,05).

A noção de que as plantas medicinais não fazem mal à saúde é uma questão interessante a ser trabalhada na própria comunidade. Nesse sentido, a atividade direta da presente pesquisa buscando contribuir para a disseminação do conhecimento científico sobre a Moringa junto aos moradores do Sítio Soledade (CE) foi através da distribuição de sementes e de panfletos abordando as indicações, contra indicações, efeitos colaterais, métodos de plantio e extração, além de estratégias de conservação da espécie. A orientação sobre o uso seguro e correto de plantas medicinais possibilita que a população tenha acesso a uma terapêutica eficaz e segura, sendo esta, também, uma responsabilidade social dos pesquisadores.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa conclui que a maioria dos participantes faz uso de plantas medicinais como alternativa no tratamento de doenças. Com relação, especificamente, a *M. oleífera* a maioria dos participantes não conhece a planta, resultando na pouca utilização da espécie pela comunidade estudada. Deste modo, constatou-se que o pressuposto inicial, de que uma porcentagem significativa (mais de 50 %) da população participante faz ou já fez uso de *M. oleífera* como tratamento alternativo para problemas de saúde, foi refutada.

A distribuição de sementes e folhetos informativos é importante para a disseminação de informações e instruções de uso da espécie, contribuindo para um possível aumento do consumo consciente e cultivo da mesma na região.

Desta forma, faz-se necessário o incentivo e desenvolvimento de pesquisas com abordagem etnobotânica, a fim de agregar contribuições para a ciência e, conseqüentemente, para a população de modo geral, já que impulsionadas pelo conhecimento tradicional, pesquisas envolvendo plantas com propriedades medicinais têm contribuído com a prospecção e inovação de fármacos.

## AGRADECIMENTOS

À comunidade do sítio Soledade em Aurora – CE/Brasil, pela colaboração e disponibilidade de participar desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS

ANTONIO, G. D., TESSER, C. D. & MORETTI-PIRES, R. O. Fitoterapia na atenção primária à saúde. **Revista de Saúde Pública**.p.541-53. 2014.

ALMEIDA, M. S. M. **Moringa oleífera Lam., seus benefícios medicinais, nutricionais e avaliação de toxicidade**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra. 2018.

ALMEIDA, R. A. & KUDLAVICZ, M. A potencialidade da pequena unidade de produção em Mato Grosso do Sul: os censos agropecuários 1995/96 e 2006 em debate. **Direitos diversidade e movimentos sociais: um diálogo necessário**. Dourados, MS: Ed. UFGD, p. 45-66, 2011.

BADKE, M. R. et al. Saber popular: uso de plantas medicinais como forma terapêutica no cuidado à saúde. **Rev. enferm. UFSM**, p. 225-234, 2016.

BAPTISTEL, A. C., COUTINHO, J. M. C. P., LINS NETO, E. M. F & MONTEIRO, J. M. Plantas medicinais utilizadas na Comunidade Santo Antônio, Currais, Sul do Piauí: um enfoque etnobotânico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.16, n.2, supl. I, p.406-425, 2014.

BARRETO, M. B., NETO, J. S. M. & BRASIL, N. V. G. P. S. Atividade antioxidante e análise da toxicidade de extratos de *Moringa oleífera* Lam. **Anais da 57ª Reunião Anual da SBPC** - Fortaleza, CE. 2005.

BITTENCOURT, S. C., CAPONI, S. & FALKENBERG, M. B. O uso das plantas medicinais sob prescrição médica: pontos de diálogo e controvérsias com o uso popular. **Revista de Farmacognosia**, v. 12, p. 89-91, 2002.

BRASILEIRO, Beatriz Gonçalves et al. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no " Programa de Saúde da Família", Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 629-636, 2008.

CALIXTO, J. S. & RIBEIRO, E. M. O Cerrado como fonte de plantas medicinais para uso dos moradores de comunidades tradicionais do Alto Jequitinhonha, MG. **II Encontro nacional de Pós graduação em Ambiente e Sociedade, Indaiatuba**, 2004.

CALÁBRIA, L. et al. Levantamento etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais em Indianópolis, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.10, n.1, p.49-63, 2008.

DISTASI, L. C. **Plantas medicinais verdades e mentiras: o que os usuários e os profissionais de saúde precisam saber**. UNESP, 2007.

FIRMO, W. C. A et. al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de pesquisa**, 2012.

FONSECA-KRUEL, S. V. & PEIXOTO, A. L. Etnobotânica na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 177-190. 2004.

FRIGHETTO, R. T. S. et al. O potencial da espécie *Moringa oleifera* (Moringaceae). I. A planta como fonte de coagulante natural no saneamento de águas e como suplemento alimentar. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2007.

FERREIRA, et al. Atividade coagulante e antibacteriana da lectina hidrossolúvel em sementes de *Moringa oleifera*. **Letters in Applied Microbiology, Oxford**, v.53, n.2, p.186-192. 2011.

GALLÃO, M. I., DAMASCENO, L. F. & BRITO, E. S. Avaliação química e estrutural da semente de *Moringa*. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, p.106-109, 2006.

GIL, A.C. Como elaborar projetos de pesquisa. 4ªEd. São Paulo: **Atlas**, 2002.

GOMES, J. S. O Uso Irracional De Medicamentos Fitoterápicos No Emagrecimento: Uma Revisão De Literatura. 2016.

GOMEZ-BELOZ, A. Plant use knowledge of the Winikina Warao: the case for questionnaires in ethnobotany. **Economic Botany**, v. 56, n. 3, p. 231-241, 2002.

JUNIOR, R. V. D. S. Uso da *Moringa oleifera* na alimentação de galinhas poedeiras. **Journal of Personality and Social Psychology**, v. 1, n. 1, p. 1188–1197, 2017.

LORENZI, H. & MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2002.

MACEDO, L. C., CRUZ, R. S., MORAIS, F. R., PAIXÃO, A. E. A., RUSSO, S. L. & SILVA, G. F. Prospecção tecnológica da *Moringa oleifera* Lam. In: **II ENCONTRO NACIONAL DE MORINGA**, 2010, Aracaju/ Se, p.1-3, 2010.

MESSIAS, M. C. T. B., MENEGATTO, M. F., PRADO, A. C. C., SANTOS B. R. & GUIMARÃES, M. F. M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.1, p.76-104, 2015.

MONTEIRO, S. C. & BRANDELLI, C. L. C. Farmacobotânica: aspectos teóricos e aplicação. **Porto Alegre: Artmed**, 2017. 156p.

PIRIZ, M. A. et al. Uso de plantas medicinais: impactos e perspectivas no cuidado de enfermagem em uma comunidade rural. **Revista eletrônica de Enfermagem**, v. 15, n. 4, p. 992-9, 2013.

PHILLIPS, O. & GENTRY, A. H. The useful plants of Tambopata, Peru: I. Statistical hypotheses tests with a new quantitative technique. **Economic Botany**, v. 47, n. 1, p. 15-32, 1993.

ROLIN, J. C. et al. Iliac artery myointimal hyperplasia in rabbits submitted to angioplasty and treated with *Moringa oleifera*. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, vol.43, n.1, 28-34, 2016.

RICARDO, L. G. P. S. et al. Estudos etnobotânicos e prospecção fitoquímica de plantas medicinais utilizadas na Comunidade do Horto, Juazeiro do Norte (CE). 2010.

SANTOS, R. L. et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.4, p.486-491, 2011.

SILVA, F. T. & SILVA, A. S. Levantamento de plantas medicinais no município de Caravelas, Ba, Brasil. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. 2020.

TOMAZZONI, M. I., NEGRELLE, R. R. B & CENTA, M. L. Fototerapia Popular: A Busca Instrumental Enquanto Prática Terapêutica. **Texto Contexto Enferm**, V. 15, n. 1, 2006.

VARELLA, D. Ervas medicinais: os conselhos de Drauzio Varella. [entrevista disponibilizada em 13 de agosto de 2010]. **Entrevistadora: Cristiane Segatto. Porto Alegre: Revista Época**. Ed. Globo, 2010.

VASCONCELOS, M. C. *Moringa oleifera* Lam.: Aspectos morfológicos, fisiológicos e cultivo em gradiente de espaçamento. 2013.

VIU, A. F. M., Viu, M. A. O. & CAMPOS, L. Z. O. Etnobotânica: uma questão de gênero? **Revista Brasileira de Agroecologia**, Goiânia, v. 5, n. 1, p.138-147, 2010.

ZAMBON, C. P., TIEGS, L. M. R., CAMPANA, G. A. & NUNES, J. S. O uso de medicamentos fitoterápicos no processo de emagrecimento em acadêmicos do curso de farmácia da faculdade de educação e meio ambiente–Faema. 2018.

# CAPÍTULO 24

## PERCEPÇÃO DE ESFORÇO E FORÇA SUBMÁXIMA EM MULHERES IDOSAS

DOI: 10.47402/ed.ep.c202173522585

**Surama do Carmo Souza da Silva**, Mestre em Ciências da Saúde, UFMA, professora do curso de Educação Física da Faculdade Pitágoras

**Flavio de Oliveira Pires**, Doutor em Biotecnologia, UFMA, professor do curso de Educação Física, UFMA

**Otávio Carvalho Sousa**, graduado em Educação Física, UFMA

**Marcus Alexandre Melo**, graduado em Educação Física, CEUMA

**Christian Emmanuel Torres Cabido**, Doutor em Ciências do Esporte, UFMG, professor do curso de Educação Física, UFMA

**Richard Diego Leite**, Doutor em Biologia (Biociências Nucleares), UERJ, professor do curso de Educação Física, UFES

### RESUMO

A avaliação da força muscular pode ser realizada através das avaliações da carga externa e carga interna de esforço. A percepção subjetiva de esforço, pode ser um dos parâmetros para a determinação da carga interna e pode sofrer interferência, devido ao declínio na aferição e processamento sensorial decorrente do envelhecimento. Dessa forma, objetivou-se identificar a correlação entre a percepção subjetiva de esforço (PSE) e a força submáxima em mulheres idosas. Esta pesquisa trata-se de um estudo transversal de análise quantitativa. Foi realizada a anamnese; avaliação antropométrica (massa corporal e estatura), e teste de força submáxima (teste de 10 repetições máximas - 10RM) nos exercícios *leg press* horizontal (LH), puxador frente (PF), mesa flexora (MF), supino vertical (SV) e cadeira extensora (CE) concomitante a avaliação da percepção de esforço (escala de percepção de esforço - PSE). Os dados são apresentados em média e desvio padrão, mediana, e percentis 25 (P25) e 75 (P75). O teste de *Shapiro Wilk* foi utilizado para análise da normalidade. O teste de correlação de *Spearman* foi utilizado para análise da correlação entre as variáveis de PSE e número de repetições no teste de força, PSE e força relativa. O nível de significância adotado foi de  $\alpha \leq 0,05$ . Ao total 31 voluntárias, com idade média de  $63,58 \pm 2,80$  anos, estatura  $149,48 \pm 4,81$  cm, massa corporal  $65,67 \pm 11,54$  Kg e IMC  $29,43 \pm 5,25$  Kg/m<sup>2</sup> (sobrepeso) compuseram a amostra. Em relação ao teste de força submáxima, foi observado que as participantes concluíram o teste de acordo com o valor de repetições estipulado (10RM), sendo classificadas como “cansativo” a “exaustivo” (16 a 20) na PSE. Ao ser analisada a correlação entre as variáveis PSE e repetições, estas apresentaram uma média (SV, -0,35 e CE, -0,32) ou pequena (MF, -0,10) correlação negativa. Quando analisada a correlação entre PSE e força relativa, a maioria dos exercícios apresentou uma pequena correlação (LH, -0,11; MF, 0,21, SV, 0,29 e CE, 0,29). Sendo assim, apesar de estatisticamente a PSE não ter apresentado forte correlação com as variáveis de força relativa ou número de repetições, as participantes apresentaram uma boa percepção da escala de PSE associada a falha máxima no teste de força submáximo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Envelhecimento; Treinamento resistido; Mulheres; Escala subjetiva de esforço; 10RM.

## INTRODUÇÃO

Conforme avança o processo de envelhecimento humano, observa-se o declínio e degeneração das mais diversas funções, e entre estas, a diminuição da função muscular paralelamente com o processo de atrofia de fibras musculares, mais especificamente, as rápidas (tipo II), desencadeando em um processo chamado de sarcopenia. Essas alterações são mais evidenciadas a partir dos 60 anos, com efeitos mais pronunciados em mulheres, sobretudo entre os 50 e 70 anos de idade, com perda de aproximadamente 15% da força a cada década de vida (AGUIRRE, 2019).

A força muscular é uma capacidade física importante para a realização das atividades de vida diárias (AVD's) (NOVAES, 2008), e no idoso, contribui para o desempenho da independência relacionada com a mobilidade, repercutindo em tarefas como velocidade da marcha, vestir-se e carregar objetos (CAMARA et al. 2008; EKLUND et al., 2016). Medidas paliativas para a preservação da massa e força musculares são necessárias para a manutenção da capacidade funcional e independência física dessa população. Dessa forma, o treinamento de força (TF) surge como uma medida não farmacológica e terapêutica capaz de retardar ou até mesmo reverter as alterações musculoesqueléticas inerentes ao processo do envelhecimento, de modo a aumentar as diferentes manifestações da força muscular (força máxima, força rápida e resistência muscular) (TILLIN; PAIN; FOLLAND, 2012), assim como reverter ou retardar a sarcopenia.

Porém, para uma adequada prescrição de treinamento, cada capacidade física deve ser avaliada de forma individualizada. Desta forma, a força muscular, por se tratar de uma capacidade física relacionada tanto com a saúde como com o desempenho esportivo, possui seus métodos próprios baseados no tipo de manifestação de força a se avaliar, com a tarefa a ser desempenhada, e levando em consideração as características dos indivíduos. A avaliação do esforço pode ser realizada através das chamadas carga externa, que utilizam variáveis do treinamento como número de repetições e carga absoluta (em Kg), e carga interna, baseado no nível de estresse imposto ao organismo pela carga externa, como as escalas de percepção de esforço (PSE) e alterações hemodinâmicas (NAKAMURA, MOREIRA e AOKI, 2010).

Um dos testes mais utilizados para avaliar o esforço através da carga externa é o teste de 1 repetição máxima (1RM). Este teste permite a avaliação da força muscular a partir da carga máxima levantada em uma única contração dinâmica voluntária máxima, podendo ser realizado em exercícios com pesos livres ou máquinas (BAECHLE e EARLE, 2008). Sua variação

consiste em testes com um número maior de repetições, como por exemplo, o teste de 10 repetições máximas (10RM), método capaz de avaliar a força muscular através de um teste de resistência de força (PRESTES et al., 2016). Este tipo de teste é utilizado principalmente quando testes máximos não são indicados, por se tratar de indivíduos de populações especiais. Por isso, a utilização de testes com mais repetições pode ser uma alternativa para determinação da carga individualizada pois permitem cálculos para a predição da carga em outras faixas de repetições e intensidades de treinamento (BAECHLE e EARLE, 2008).

Já em relação a avaliação da carga interna, uma das formas de medida desta é através da escala de percepção subjetiva de esforço (PSE), que se baseia na mensuração da fadiga muscular percebida pelo próprio indivíduo através de uma escala numérica. Esta por sua vez, deve ser capaz de predizer o quão difícil é um exercício, de modo a fazer interrelação com as variáveis da carga de treinamento (AZEVEDO, 2019). A PSE está relacionada com a integração de sinais periféricos (músculos e articulações) e centrais (ventilação) obtidos através de mecanorreceptores, cuja interpretação e processamento das informações se dá no córtex sensorial, gerando assim a percepção geral ou local do esforço (NAKAMURA, MOREIRA e AOKI, 2010).

Ainda não se sabe quais os reais mecanismos que levam a alterações no controle neuronal com o envelhecimento, porém acredita-se que a presença de doenças vasculares ou processos de neuroinflamação podem de alguma forma alterar a comunicação interneurônios (SOROND et al., 2015). Algumas das características de declínio no sistema nervoso sensorial são redução da inervação periférica e lentificação da condução nervosa (DE MORAES, 2008). A diminuição do número de neurônios sensoriais incidem em alterações no córtex cerebral, contribuindo na diminuição do tamanho e peso do encéfalo, alterando dessa forma o processamento das informações feito pelo sistema nervoso central (SNC) (LAMAS e PAUL, 2013). Dessa forma, além da dificuldade na transmissão do impulso nervoso, com o envelhecimento, há um prejuízo na decodificação das informações que chegam ao SNC, prejudicando assim a percepção de esforço. A vantagem da utilização dessa escala é que a avaliação do esforço é feita de maneira não invasiva, de fácil aplicação e pouco onerosa, o que faz desta, um dos instrumentos mais utilizados para a avaliação e quantificação das sensações de esforço físico (ALMEIDA e tal., 2010; DÉA et al., 2016).

Porém, por se tratar de uma avaliação subjetiva em uma população cujos sinais sensoriais encontram-se prejudicados devido ao envelhecimento, é necessário investigar se

realmente a avaliação da carga externa obtida através de um teste direto é condizente com a avaliação da carga interna obtida de forma subjetiva. Dessa forma o objetivo geral dessa pesquisa foi identificar a correlação entre a percepção subjetiva de esforço (PSE) e a força submáxima em mulheres idosas.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Esta investigação trata-se de um estudo transversal de análise quantitativa. Foram adotados os seguintes critérios de inclusão para a participação na pesquisa: sexo feminino, idade de 60 a 69 anos e sem experiência com TF. Foram critérios de não inclusão: as participantes não poderiam apresentar nenhuma limitação na funcionalidade física e/ou patologias que interferissem no desempenho do exercício ou comprometessem o resultado da pesquisa, histórico de problema cardíaco instável recente ou nos últimos três meses da inclusão no estudo; diabéticas, com lesões osteomioarticulares nos últimos seis meses, patologias reumáticas, próteses nos membros superiores e inferiores, doenças degenerativas. Aquelas participantes cujo não obtivessem a liberação pelo médico da pesquisa foram excluídas da amostra. A seleção da amostra foi do tipo aleatória e por conveniência. As participantes foram recrutadas a partir de anúncios vinculados nas mídias sociais (rádio, TV e internet) ou por indicação de outras participantes da pesquisa. Todas as avaliações ocorreram no Laboratório de Força e Prescrição de Exercícios da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Todas as participantes leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de acordo com a Declaração de Helsinki. A pesquisa encontra-se aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Instituição (CEP-UFMA), com o parecer consubstanciado de número 1.301.113.

## **AVALIAÇÕES**

Inicialmente, as participantes responderam a uma anamnese constituída de informações pessoais (nome completo, idade, data de nascimento, endereço, telefones de contato). Em seguida, passaram pela avaliação antropométrica que foi composta pela medida da estatura e massa corporal, e posteriormente, foi calculado o índice de massa corporal (IMC). Para a medida da massa corporal e estatura foi utilizada a balança com estadiômetro acoplado WELMY<sup>®</sup> (W300A, USA) com capacidade máxima de 300Kg. As participantes permaneceram em posição ortostática, com os pés unidos, tocando os calcanhares no aparelho. A medida da estatura foi realizada com as participantes em apnéia inspiratória, com o vértex (ponto mais alto da cabeça) tocando o estadiômetro (CHARRO et al., 2010).

Para a avaliação da força submáxima foi utilizado o protocolo de 10RM de acordo com o descrito por SILVA et al. (2018). Antes da aplicação do teste de 10RM, as participantes passaram por 1 semana de familiarização, com 3 sessões de treinamento em dias alternados (segunda, quarta e sexta-feira) utilizando os 5 exercícios adotados no teste de força, para assegurar a adequada realização da técnica. Os exercícios realizados durante o teste de 10RM foram: *leg press* horizontal (LH), puxador frontal (PF), mesa flexora (MF), supino vertical (SV) e cadeira extensora (CE), respectivamente.

As sessões foram compostas por 3 séries com 10 repetições e intervalo de 2 minutos entre cada série e 5 minutos entre cada exercício. Não foi acrescentada carga no primeiro dia, sendo utilizado o peso mínimo existente em cada aparelho. Somente no segundo e terceiro dia de familiarização utilizou-se a Escala de Percepção Subjetiva de Esforço (Borg, graduada de 6-20) (SERAFIM et al., 2014) para regular a intensidade, sendo adotados os valores de 11 a 14 (relativamente fácil a ligeiramente cansativo) no segundo dia, e de 15 a 16 (cansativo) no terceiro dia.

O teste de 10RM foi realizado de 48 às 72hs após a última sessão de familiarização, por se tratar de um teste submáximo de força. Para a obtenção dos valores do teste de 10RM respeitou a mesma ordem de exercícios da familiarização (LH, PF, MF, SV e CE). O valor da carga do teste de 10RM foi alcançada em no máximo cinco tentativas. Para reduzir a chance de erro, foram adotadas as seguintes estratégias: 1) As participantes foram instruídas de todas as rotinas que envolviam os testes e sobre a técnica de execução dos mesmos; 2) O avaliador deveria estar atento a mudanças posturais que comprometessem o resultado dos testes; 3) As participantes foram motivadas verbalmente; 4) Os intervalos foram fixados entre 2 a 5 min. entre as tentativas e 10 minutos entre os diferentes exercícios; 5) Nenhuma pausa foi permitida entre as fases concêntricas e excêntricas das repetições. Para o controle da velocidade de execução, foi utilizado um metrônomo (Metronome Batidas, Stonekik), com a velocidade de 60bpm, sendo adotado o tempo de 3 segundos tanto para a fase concêntrica quanto a fase excêntrica; 6) O movimento deveria ser realizado em sua amplitude completa para a repetição ser considerada válida. A carga mais alta no teste de 10RM foi utilizada para análise da força muscular submáxima (PAZ et al., 2014; PRESTES et al., 2015; RADAELLI et al., 2015). Os dados de força muscular foram apresentados em força absoluta (Kg) obtidos mediante o resultado da carga do teste de 10RM, e força relativa (Kg/rep), através do cálculo força absoluta / número de repetições no teste.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados da pesquisa são apresentados em média e desvio padrão, mediana, e percentis 25 (P25) e 75 (P75). O teste de *Shapiro Wilk* foi utilizado para análise da normalidade, e o teste de correlação de *Spearman* para as variáveis de PSE e número de repetições, e PSE e força relativa, adotando o nível de significância como  $\alpha \leq 0,05$ . Para averiguar o grau de correlação entre as variáveis, foi utilizado o critério adotado por *Cohen* (1988), com as seguintes classificações: valores entre 0,10 a 0,29 = pequena; 0,30 a 0,49 = média; e 0,50 a 1 = grande correlação (FIGUEIREDO FILHO e SILVA JÚNIOR, 2009).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, participaram 31 voluntárias, com idade média de  $63,58 \pm 2,80$  anos, estatura  $149,48 \pm 4,81$  cm, massa corporal  $65,67 \pm 11,54$  Kg e IMC  $29,43 \pm 5,25$  Kg/m<sup>2</sup>. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as participantes dessa pesquisa foram classificadas com sobrepeso (de 25 a 29,9 Kg/m<sup>2</sup>) (MANCINI et al., 2016). De Moraes (2008) descreve pontos de corte distintos, sendo categorizados com eutrofia 22 a 27 Kg/m<sup>2</sup>, subnutrição < 22 Kg/m<sup>2</sup> e obesidade > 27 Kg/m<sup>2</sup>, o que ainda assim estratificaria as participantes dessa pesquisa na faixa de obesidade. Segundo o mesmo autor, o aumento de massa corporal tende a ocorrer com o envelhecimento, relacionado tanto com fatores inerentes do indivíduo, como fatores genéticos e endócrinos, mas também com os fatores ambientais, como redução do nível de atividade física e alterações alimentares, levando a uma diminuição nos tecidos metabolicamente ativos, e aumento no tecido adiposo.

Os valores de carga absoluta, força relativa, percepção subjetiva de esforço e número de repetições por exercício se encontram na tabela 1. Em se tratando da percepção de esforço, as participantes foram classificadas na maioria dos exercícios com o esforço “muito pesado” (SERAFIM et al., 2014), atingindo o valor mínimo estipulado (17 a 20, “muito pesado” a “máximo esforço”). Na pesquisa de Rodrigues, Da Costa e Leite (2016) foram utilizadas as escalas de OMNI-RES e Borg para avaliar a PSE e o volume de repetições em duas diferentes ordens de exercícios em mulheres idosas. Os autores utilizaram o mesmo número de repetições para o teste de avaliação da força (10RM) e a mesma escala de PSE (Borg de 6 a 20). Um importante fato é que apesar da pesquisa dos mesmos avaliarem as idosas em um esforço máximo, os valores observados foram de 12 a 15 na média, o que classificaria o esforço de “leve” (11 a 12) a “difícil/pesado” (15 a 16) (SERAFIM et al., 2014). O mesmo se confirma através dos resultados obtidos pela escala OMNI-RES, com os resultados variando na média

de 5,9 a 8, ou seja, de razoavelmente fácil a pesado (NAKAMURA, MOREIRA e AOKI, 2010). Em contraste, os valores apresentados na presente pesquisa variaram de 17 a 18, o que classifica o esforço como “muito pesado”.

Tabela 1 Valores de carga absoluta, percepção subjetiva de esforço, força relativa e número de repetições obtidas no teste de 10 repetições máximas (10RM)

EXERCÍCIOS	Variáveis	Md	P25	P75	p
LEG HORIZONTAL	carga (Kg)	75,2	52	82,5	0,41
	repetições	10	10	11	<0,01
	FR (Kg/rep)	7,17	5,08	7,86	0,54
PUXADOR FRONTAL	PSE	17	17	19	0,02
	carga (Kg)	34,3	32	39,55	0,17
	repetições	10	10	10	<0,01
MESA FLEXORA	FR (Kg/rep)	3,43	3,20	4,07	<0,01
	PSE	17	16	18	0,08
	carga (Kg)	18	17,7	23	0,06
SUPINO VERTICAL	repetições	10	10	10	<0,01
	FR (Kg/rep)	1,80	1,77	2,30	0,06
	PSE	17	17	18,5	0,11
CADEIRA EXTENSORA	carga (Kg)	21,4	18	25	0,50
	repetições	10	10	10	<0,01
	FR (Kg/rep)	2,14	1,80	2,50	0,40
CADEIRA EXTENSORA	PSE	17	15	18	0,03
	carga (Kg)	25	21,4	36	<0,01
	repetições	10	10	10	<0,01
CADEIRA EXTENSORA	FR (Kg/rep)	2,50	2,14	3,66	<0,01
	PSE	18	15,5	19	<0,01

Legenda: Md: Mediana; P25: percentil 25; P75: percentil 75; rep: repetições; PSE: escala de percepção de esforço.

Em um estudo semelhante, Silva, Monteiro e Farinatti (2009) encontraram valores médios de 4,6 a 6,2 de PSE utilizando a escala de Borg (de 0 a 10) ao submeter as idosas a treinarem a 100% dos 10RM, executando as repetições até a falha máxima concêntrica. É importante destacar que ambas as pesquisas citadas, as idosas apresentaram valores de PSE abaixo das classificações máximas (próximo de 10 ou 20, dependendo da escala), e que, ao serem treinadas com as cargas obtidas no teste de 10RM, executavam um número bem mais elevado de repetições que as 10 previstas, levando em consideração que o teste era máximo. De acordo com Souza Filho e Araújo (2017), a intensidade é uma importante variável do treino de força, pois pode impactar os sistemas fisiológicos e alterará o esforço percebido pelo indivíduo. Aparentemente, as idosas da presente pesquisa obtiveram um elevado grau de esforço ao realizarem o teste de 10RM, observado através dos resultados da PSE.

Monteiro, Simão e Farinatti (2005) analisaram a manipulação na ordem dos exercícios e sua influência sobre o número de repetições e PSE em mulheres treinadas. Os pesquisadores observaram que, mesmo utilizando diferentes ordens dos exercícios supino horizontal (SH), desenvolvimento (DP) e tríceps no pulley (TR) (sequência A (SEQA):SH, DP e TR; sequência B (SEQB) – TR, DP e SH), não houve diferença em relação à fadiga percebida pelas participantes em relação a execução de cada ordem. Quando analisada a PSE ao realizar o esforço na intensidade de 10RM, o valor mediano de PSE apresentado foi de 5,5 para SEQA e 6,5 para SEQB na escala de Borg CR10. Dessa forma, pela percepção de esforço, as participantes apresentaram o esforço como “difícil” (5 a 6) (NAKAMURA, MOREIRA e AOKI, 2010) em uma escala de 0 a 10. O que se percebe é que nas pesquisas apresentadas, as participantes independentemente da idade (jovens ou idosas), ou nível de treinamento (treinadas ou destreinadas no TF), não indicaram esforços máximos quando confrontadas as escalas, independente da escala utilizada (Borg de 0 a 10 ou de 6 a 20, OMNI-RES de 0 a 10), resultado diferente do apresentado nessa pesquisa. O cerne dessas diferenças deve ser mais bem analisadas, tendo em vista que as pesquisas apresentaram a mesma metodologia para a aplicação dos testes de força e das escalas, incluindo as fases de familiarização, teste e testes, com exceção da pesquisa de Monteiro, Simão e Farinatti (2005) pelo fato das mulheres já serem treinadas no TF.

Por não existirem padrões específicos de força relativa (SUCHOMEL et al., 2018), são utilizados testes de força (1RM, 10RM), valores antropométricos (IMC, massa corporal, massa magra, massa livre de gordura) e diferentes manipulações das variáveis do treinamento de força (número de repetições, tempo sobre tensão), o que dificulta a comparação entre os resultados. Ainda assim, a maioria das pesquisas apresentam apenas os valores absolutos das cargas obtidas nos testes, ou o número de repetições, sem levar em consideração a força relativa (RODRIGUES, DA COSTA E LEITE, 2016; SILVA, MONTEIRO E FARINATTI, 2009). A forma utilizada para avaliar a força relativa nesta pesquisa foi dividindo a carga pelo número de repetições executadas. Desta forma, as participantes apresentaram valores que variaram de 1,8 a 7,17 Kg/rep. Essa diferença encontrada nos valores de força relativa se deu porque os diferentes exercícios mobilizam grupamentos musculares com um maior ou menor volume de massa (WILLOUGHBY, 1993), influenciando assim na quantidade de repetições que determinado seguimento consegue executar. No caso, os maiores e menores valores pertencem, respectivamente aos músculos flexores e extensores do quadril (coxa), e flexores do joelho.

Ainda que a maioria das pesquisas não realizem a avaliação da força relativa, esta se faz importante pelo fato de apresentar uma análise mais qualitativa do exercício, levando em consideração a capacidade efetiva de gerar força de acordo com a quantidade de movimento e carga envolvida.

Ao ser analisada a correlação entre as variáveis PSE e repetições no teste de força submáximo (10RM), os exercícios supino vertical e cadeira extensora apresentaram uma correlação média negativa, sendo que os demais exercícios apresentaram pequena ou nenhuma correlação. Quando analisada a correlação entre PSE e força relativa ao teste de 10RM, a maioria dos exercícios apresentou uma pequena correlação, com exceção do puxador, que não apresentou correlação de acordo com o critério adotado. Os valores e classificação da correlação entre a PSE, força relativa e número de repetições no teste de força submáxima se encontram na tabela 2.

Tabela 2. Valores e classificação da correlação entre a PSE, força relativa e número de repetições no teste de força máxima.

	LEG HORIZONTAL			PUXADOR			MESA FLEXORA			SUPINO VERTICAL			CADEIRA EXTENSORA		
	r	p	Class,	r	p	Class,	r	p	Class,	r	p	Class,	r	p	Class,
PSE x REP	<0,01	0,97	-	-0,06	0,73	-	-0,10	0,57	pequena	-0,35	0,04	média	-0,32	0,07	média
PSE x FR	-0,11	0,55	pequena	-0,06	0,72	-	0,21	0,25	pequena	0,29	0,10	pequena	0,29	0,10	pequeno

Legenda: REP: repetições; FR: força relativa; PSE: escala de percepção de esforço; r: valor do teste de correlação de Spearman; Class.: classificação do teste de acordo com Cohen (1988).

## CONSIDERACOES FINAIS

Apesar de estatisticamente a PSE não ter apresentado forte correlação com as variáveis de força relativa e número de repetições, na presente pesquisa foi possível observar que as participantes mesmo inexperientes no TF, apresentaram uma boa percepção da escala de PSE ao chegarem até a falha máxima, se aproximando do valor máximo da escala. Como aplicação prática, acredita-se que ao serem avaliadas em testes de força submáxima, a escala de PSE de Borg pode ser uma ferramenta na avaliação de esforço em mulheres idosas. Destaca-se a necessidade de estudos com idosos em outras realidades, como treinados e em idades maiores, assim como exercícios livres e em outras faixas de repetição. Como implicações futuras, sugere-se também a utilização de marcadores diretos como medição de lactato e eletromiografia (EMG) para confrontar a percepção de esforço dos avaliados.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E. A. et al. Comparação da qualidade de vida entre idosos que participam e idosos que não participam de grupos de convivência na cidade de Itabira-MG. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p. 435-443, 2010.

BAECHLE, Thomas R.; EARLE, Roger W. (Ed.). **Essentials of strength training and conditioning**. Human kinetics, 2008.

CAMARA, Fabiano Marques et al. Capacidade funcional do idoso: formas de avaliação e tendências cidade funcional do idoso: formas de avaliação e tendências. **ACTA FISIATR**, v. 15, n. 4, p. 249-256, 2008.

CHARRO, M. et al. Manual de avaliação física. **São Paulo: Phorte**, 2010.

COSTA, João Vitor Leme da. Correlação entre a autopercepção de competência com o desempenho na tarefa de levantar-se do solo de sujeitos idosos saudáveis. **Revista Pensar a Prática**, v. 23, n. e, p. 2-22, 2020.

DÉA, V. H. S. D. et al. **Envelhecimento: informações, programa de atividade física e pesquisas**. São Paulo: Phorte, 2016. 238 p.

DE MORAES, Edgar Nunes. 6. Processo de envelhecimento e bases da avaliação multidimensional do idoso. **Envelhecimento e saúde da pessoa idosa**. p. 151, 2008.

EKLUND, Daniela *et al.* Fitness, body composition and blood lipids following three concurrent strength and endurance training modes. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 41, n. 7, p.767-774, 2016.

FIGUEIREDO FILHO, D. B; SILVA JUNIOR, J. A. **Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson**. 2009.

JANUÁRIO, Selvatici Borges et al Qualidade de vida em idosos ativos e sedentários. **ConScientiae Saúde**, v. 10, n. 1, p. 112-121, 2011.

LAMAS, Maria Céu Ribeiro; PAUL, Constança. O envelhecimento do sistema sensorial: implicações na funcionalidade e qualidade de vida. **Actas de gerontologia**. v 1, n 1., p 1-11, 2013.

MANCINI, M. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. 4.<sup>a</sup> edição. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade 2016.

MONTEIRO, Wallace; SIMÃO, Roberto; FARINATTI, Paulo. Manipulation of exercise order and its influence on the number of repetitions and effort subjective perception in trained women. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v. 11, p. 146-150, 2005.

NAKAMURA, Fabio Yuzo; MOREIRA, Alexandre; AOKI, Marcelo Saldanha. Monitoramento da carga de treinamento: a percepção subjetiva do esforço da sessão é um método confiável. **Journal of physical education**, v. 21, n. 1, p. 1-11, 2010.

NEGÓCIO, Tatiana Petrucci. Composição corporal, força muscular e autonomia funcional de idosas. **68f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Sociedade) – Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró, 2019.**

PAZ, G. et al. Efeito do método agonista-antagonista comparado ao tradicional no volume e ativação muscular. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 19, n. 1, p. 54, 2014.

PRESTES, J., D. Foschini, et al. (2016). "Prescrição e periodização do treinamento de força em academias." São Paulo, Phorte.

PRESTES, J. et al. Understanding the individual responsiveness to resistance training periodization. **Age**, v. 37, n. 3, p. 1-13, 2015.

RADAELLI, R. et al. Dose-response of 1, 3, and 5 sets of resistance exercise on strength, local muscular endurance, and hypertrophy. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 29, n. 5, p. 1349-1358, 2015.

RODRIGUES, Evelyn Feitosa; DA COSTA, Laissa Lima; LEITE, Richard Diego. Influência da ordem dos exercícios resistidos na percepção subjetiva de esforço e número de repetições em mulheres idosas. **ConScientiae Saúde**, v. 15, n. 3, p. 361-369, 2016.

SERAFIM, T. H. et al. Development of the color scale of perceived exertion: preliminary validation. **Perceptual and motor skills**, v. 119, n. 3, p. 884-900, 2014.

SUCHOMEL, Timothy J. et al. The importance of muscular strength: training considerations. **Sports medicine**, v. 48, n. 4, p. 765-785, 2018.

SILVA, Nádía Souza Lima da; MONTEIRO, Wallace David; FARINATTI, Paulo de Tarso Veras. Influência da ordem dos exercícios sobre o número de repetições e percepção subjetiva do esforço em mulheres jovens e idosas. **Revista brasileira de Medicina do Esporte**, v. 15, p. 219-223, 2009.

SILVA, Surama do Carmo Souza da et al. **Respostas neuromusculares e antropométricas de idosas submetidas a dois diferentes tipos de periodizações do treinamento de força**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís. Disponível em: <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/tede/2347>. 2018.

SOUZA FILHO, Francisco Rômulo de; ARAUJO, Joamira Pereira de. **Percepção subjetiva de esforço durante exercícios de força com restrição de fluxo sanguíneo em ambientes distintos**. In: Seminário de Iniciação Científica 2017.

TILLIN, N. A.; PAIN, M. T. G.; FOLLAND, J. P. Short-term training for explosive strength causes neural and mechanical adaptations. **Experimental physiology**, v. 97, p. 630–41, 2012.

WILLOUGHBY, Darryn S. The effects of mesocycle-length weight training programs involving periodization and partially equated volumes on upper and lower body strength. **J Strength Cond Res**, v. 7, n. 1, p. 2-8, 1993.



www.editorapublicar.com.br  
contato@editorapublicar.com.br  
@epublicar  
facebook.com.br/epublicar

# Ciências Biológicas:

**DESENVOLVIMENTO EM PESQUISAS APLICADAS**

Jordany Gomes da Silva  
Patrícia Gonçalves de Freitas  
Organizadores



**2021**

[www.editorapublicar.com.br](http://www.editorapublicar.com.br)  
[contato@editorapublicar.com.br](mailto:contato@editorapublicar.com.br)  
@epublicar  
[facebook.com.br/epublicar](https://facebook.com.br/epublicar)

# Ciências Biológicas:

**DESENVOLVIMENTO EM PESQUISAS APLICADAS**

Jordany Gomes da Silva  
Patrícia Gonçalves de Freitas  
Organizadores



**2021**