

José Max Barbosa de Oliveira Junior
Lenize Batista Calvão
(Organizadores)



**As Ciências
Biológicas e a
Construção de
Novos Paradigmas
de Conhecimento**

José Max Barbosa de Oliveira Junior
Lenize Batista Calvão
(Organizadores)

As Ciências Biológicas e a Construção de Novos Paradigmas de Conhecimento

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Rafael Sandrini Filho
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

| Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG) | |
|---|--|
| C569 | As ciências biológicas e a construção de novos paradigmas de conhecimento [recurso eletrônico] / Organizadores José Max Barbosa de Oliveira Junior, Lenize Batista Calvão. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-540-2 DOI 10.22533/at.ed.402191508 1. Biotecnologia. 2. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. 3. Ecologia. I. Oliveira Junior, José Max Barbosa de. II. Calvão, Lenize Batista. CDD 660.6 |
| Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422 | |

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “**As Ciências Biológicas e a Construção de Novos Paradigmas de Conhecimento**” consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora. Com nove capítulos o volume I apresenta uma vasta heterogeneidade de conceitos e aplicações nas áreas de Biotecnologia, Genética, Saúde humana, Educação bem como a importância das condições ambientais que as espécies estão inseridas. No cenário atual de mudanças ambientais correntes e avanços tecnológicos é extremamente importante o uso adequado de técnicas em cada área.

O E-Book foi dividido em nove capítulos que abordam estratégias didáticas usando práticas em campo para alunos da educação básica. As aplicações dessas práticas permitem os discentes observar por si próprios novos domínios do conhecimento incluindo áreas com conceitos complexos como em Ecologia. Esse avanço possibilita a longo prazo que os alunos sejam participativos nas decisões do meio em que vivem. O tema sobre Saúde humana se encontra em pauta trazendo os aspectos nutricionais de adolescentes com e sem Síndrome de Down. Discussões importantes como obesidade e baixa ingestão de fibras realizada pelos jovens devem ser elencados para uma educação alimentar desde os primeiros anos escolares.

As aplicações de técnicas adequadas de Biotecnologia são extremamente importantes para uso de produtos eficazes em diversas áreas. Adicionalmente, análises citogenéticas fornecem informações que são relevantes e direcionar um correto aconselhamento genético familiar. O livro também traz publicações que contribuí com avanços na área da medicina veterinária, através da avaliação macroscópica e microscópicamente de lesões cranioencefálicas de cães e gatos.

Por fim, atividades humanas como construção de reservatórios são cada vez mais frequentes em sistemas naturais, desta forma a avaliação das condições ambientais da variação espacial é muito importante para conservação das espécies. Os estudos apresentados aqui, em português e linguagem acessível, são de extrema relevância nas áreas destinadas a saúde humana, sociais, medicina veterinária e relação das espécies com ambiente englobando uma série de perguntas intrigantes e também compreensível a jovens cientistas.

Excelente leitura!

José Max Barbosa de Oliveira Junior

Lenize Batista Calvão

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| CAPÍTULO 1 | 1 |
| A BOTÂNICA COM FOCO NO OLHAR DE ESTUDANTES DO ENSINO MÉDIO DE UMA ESCOLA ESTADUAL DE COMODORO - MT | |
| Josefa Silva dos Santos Jucimar Silva dos Reis | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915081 | |
| CAPÍTULO 2 | 11 |
| ANÁLISE DA DIETA E ESTADO NUTRICIONAL DE CRIANÇAS COM SÍNDROME DE DOWN: ESTUDO DE CASO-CONTROLE | |
| Bruna Rongetta Torres Amanda Daniel Natalia Tonon Domingues Luiza Tavares Carneiro Santiago Cristina Helena Lima Delambert Bizzotto Carlos Alexandre Hattori Tiba Lidia Raquel De Carvalho Catia Regina Branco Da Fonseca | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915082 | |
| CAPÍTULO 3 | 22 |
| AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DAS FOLHAS DE <i>Piptadenia stipulacea</i> | |
| Geovanna Hachyra Facundo Guedes Bruno Mendes Tenorio José Anderson da Silva Gomes Letícia Simone Melo dos Santos Marcos Aurélio Santos da Costa Maria Luísa Figueira de Oliveira Matheus Carvalho Brito Leite Renatha Claudia Barros de Sobreira Tainá Maria Santos da Silva Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenório Carolline Guimarães D'Assunção Cintia Giselle Martins Ferreira | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915083 | |
| CAPÍTULO 4 | 31 |
| AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA DE LESÕES CRANIOENCEFÁLICAS EM PEQUENOS ANIMAIS | |
| Barbara Wagner Duarte Ferraz de Camargo Tália Missen Tremori Selene Daniela Babboni Maria Jaqueline Mamprim Noeme Sousa Rocha | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915084 | |

| | |
|---|-----------|
| CAPÍTULO 5 | 45 |
| CRISPR/CAS9 COMO FERRAMENTA PARA O ESTUDO DO NICHOS ESPERMATOGONIAL DE ZEBRAFISH (<i>DANIO RERIO</i>) | |
| Matheus Morais Miranda | |
| Lucas Benites Doretto | |
| Rafael Henrique Nóbrega | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915085 | |
| CAPÍTULO 6 | 59 |
| PHYTOCHEMICAL STUDY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF <i>Anacardium occidentale</i> L. AND <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão | |
| Sérvio Quesado Junior | |
| Márcia Maria Mendes Marques | |
| Ana Raquel Araújo da Silva | |
| Maria Izabel Florindo Guedes | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915086 | |
| CAPÍTULO 7 | 69 |
| LIMNOLOGIA COMPARADA DOS PRINCIPAIS TIPOS DE HABITATS DO RESERVATÓRIO DE ROSANA, RIO PARANAPANEMA (SP/PR) | |
| Rafaela Shizuko Yamashita Kimura | |
| João Felipe Denys Pereira | |
| Maria Luisa Passos Frigero | |
| Marco Aurélio Pessotto | |
| Pedro Vinícius Melo dos Santos | |
| Marcos Gomes Nogueira | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915087 | |
| CAPÍTULO 8 | 81 |
| OLIGOMERIZAÇÃO DO COMPLEXO FERRITINA-LIGANTE POR MEIO DA EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DA FERRITINA DE <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> | |
| Giovanna Tavares Jeronymo | |
| Ricardo Barros Mariutti | |
| Thaís Caroline Serafim | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915088 | |
| CAPÍTULO 9 | 93 |
| TRANSLOCAÇÃO BALANCEADA HERDADA T(8;19)(Q12;Q13)MAT CONCOMITANTE À DELEÇÃO DE 15Q11.2 EM UM PACIENTE COM SÍNDROME DE ANGELMAN (SA) - A CITOGENÉTICA CLÁSSICA NÃO EVANESCE | |
| Elenice Ferreira Bastos | |
| Carlos Roberto da Fonseca | |
| Patrícia Santana Correia | |
| Cristiane Queila Ebraim Barros | |
| Ingrid Bendas Feres Lima | |
| Anna Luiza Vaz Serrão | |
| Lúcia de Fátima Marques de Moraes | |
| Juan Clinton Llerena Jr | |
| DOI 10.22533/at.ed.4021915089 | |
| SOBRE OS ORGANIZADORES | 99 |
| ÍNDICE REMISSIVO | 99 |

AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DAS FOLHAS DE *PIPTADENIA STIPULACEA*

Geovanna Hachyra Facundo Guedes

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e embriologia, UFPE
Recife, Pernambuco

Bruno Mendes Tenorio

Universidade da Paraíba, Departamento de
Morfologia, UFPB

José Anderson da Silva Gomes

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e embriologia, UFPE

Letícia Simone Melo dos Santos

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e embriologia, UFPE

Marcos Aurélio Santos da Costa

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e embriologia, UFPE

Maria Luísa Figueira de Oliveira

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e embriologia, UFPE

Matheus Carvalho Brito Leite

Universidade Federal de Pernambuco, UFPE
Recife, Pernambuco

Renatha Claudia Barros de Sobreira

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e embriologia, UFPE

Tainá Maria Santos da Silva

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e embriologia, UFPE

Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenório

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e embriologia, UFPE

Carolline Guimarães D'Assunção

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
UFRPE

Cintia Giselle Martins Ferreira

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
UFRPE

RESUMO: O presente trabalho descreve a investigação do potencial toxicológico do extrato etanólico das folhas de *P. stipulacea*, através da ensaio de fragilidade osmótica dos eritrócitos de carneiro. O material vegetal foi coletado, posteriormente a obtenção do extrato. Após isso, amostras de sangue de carneiro comercial (Laborclin®) (25 μ L) foram expostas ao extrato, durante 30 minutos a temperatura ambiente em diferentes concentrações: 50 μ g/mL, 100 μ g/mL, 250 μ g/mL, 500 μ g/mL, 750 μ g/mL e 1000 μ g/mL diluídas em solução isotônica de cloreto de sódio 0,9%. As soluções com as amostra foram centrifugadas a 2500rpm, por 3 minutos a 25°C. Em seguida, foi preparado um esfregaço em lâmina de vidro e as preparações histológicas foram coradas, e então observadas através de microscópio óptico conectado a Câmera Leica DFC-280 em aumento de 1000x. O extrato etanólico de folhas de *P. stipulacea* nas diferentes concentrações (50 μ g/mL,

100µg/mL, 250µg/mL, 500µg/mL, 750µg/mL e 1000µg/mL), não apresentou fragilidade osmótica, quando avaliado, qualitativamente, pela tonalidade avermelhada (hemólise) no sobrenadante obtido após a centrifugação. As observações histológicas das preparações dos esfregaços do sangue de carneiro após o tratamento com o extrato etanólico das folhas de *P. stipulacea* não causou fragilidade osmótica nos eritrócitos do ensaio de fragilidade osmótica, quando comparado com os grupos controles. O ensaio de toxicidade *in vitro* com o extrato etanólico das folhas de *P. stipulacea* não apresentou atividade hemolítica, nem alterações na morfologia dos eritrócitos.

PALAVRAS-CHAVE: Toxicidade, *Piptadenia satipulaceae*, fragilidade osmótica.

CYTOTOXIC EVALUATION OF THE LEAVES OF *Piptadenia stipulacea*

ABSTRACT: The present work describes the investigation of the toxicological potential of the ethanolic extract obtained from *P. stipulacea* leaves through the osmotic fragility assay of lamb erythrocytes. Initially the vegetal material was collected for later obtainment of the extract. After that, samples of commercial lamb blood (Laborclin®) (25 µL) were exposed to the extract for 30 minutes at room temperature in different concentrations diluted in 0.9% isotonic NaCl solution: 50 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL and 1000µg/mL. Solutions with samples were centrifuged at 2500 rpm for 3 minutes at 25 ° C. Afterwards, a thin smear was prepared and the histological preparations were stained. These histological preparations were observed by light microscopy connected to a Leica DFC-280 Camera in a 1000x magnification. The ethanolic extract of leaves of *P. stipulacea* at different concentrations (50µg / mL, 100µg / mL, 250µg / mL, 500µg / mL, 750µg / mL and 1000µg / mL) did not provoked osmotic fragility when evaluated qualitatively through the red tonality (hemolysis) of the supernatant obtained after centrifugation. Histological observations of lamb blood thin smears after treatment with the ethanolic extract of *P. stipulacea* leaves showed no morphological changes in the erythrocytes of the osmotic fragility assay as compared to the control groups. The *in vitro* toxicity test with the ethanolic extract of leaves of *P. stipulacea* did not show hemolytic activity nor alter erythrocyte morphology.

KEYWORDS: Toxicity. *Piptadenia satipulaceae*. Osmotic fragility.

1 | INTRODUÇÃO

O interesse popular no uso de plantas medicinais para fins terapêuticos tem sido muito significativo nos últimos tempos, principalmente nos países em desenvolvimento, devido ao difícil acesso da população aos medicamentos sintéticos. De acordo com a OMS, entre 60- 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional ou a fitoterapia no tratamento de várias doenças¹.

A utilização de plantas como medicamento está fundamentada em estudos etnofarmacológicos que, partindo do uso tradicional e do conhecimento popular sobre as propriedades farmacológicas (anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana,

antiespasmódica, antitérmica, laxativas, entre outras) de certas drogas vegetais, indicam o potencial para o desenvolvimento de novos fitoterápicos².

Muitos testes comprometidos com a análise de agentes tóxicos utilizam animais de laboratório. Entretanto, existe uma busca crescente por métodos *in vitro* que não utilizem animais em sua execução⁴. Laboratorialmente, o ensaio de hemólise *in vitro* vem sendo utilizado rotineiramente em estudos de toxicidade de plantas medicinais e de utilidade pecuária, exibindo-se positivo, principalmente, as espécies que apresentam saponinas em sua composição¹⁶.

A Fabaceae é uma grande família de ervas, arbustos e árvores com grande variedade de habitats, incluindo aquáticas, xerófitas e trepadeiras. Tem distribuição cosmopolita nas zonas tropicais, subtropicais e temperadas⁵. E é constituída por 476 gêneros e 13.855 espécies⁶.

O gênero *Piptadenia* possui cerca de 80 espécies de árvores, arbustos e trepadeiras^{7,8}. No Brasil, as espécies desse gênero estão presentes nos estados Amazonas, Bahia, Ceará, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Piauí, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo⁷.

A espécie *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke é uma árvore típica da Caatinga do Nordeste Brasileiro⁹ (Figura 1), amplamente distribuída no bioma caatinga, do Piauí à Bahia¹⁰ e é conhecida popularmente como “jurema branca”¹¹. Essa espécie é muito usada na medicina popular no tratamento dos processos inflamatórios e estudos científicos confirmam sua atividade antimicrobiana e antifúngica¹².

As cascas do caule e folhas de *P. stipulacea* são usadas na medicina popular na forma de tintura ou decocto para tratar feridas⁹, sendo indicado como cicatrizante¹³. Estudos farmacológicos indicam que alguns extratos de *P. stipulacea* são eficazes contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecius* e *Neurospora crassa*¹² e que o extrato etanólico das folhas dessa espécie foi ativo contra *Klebsiella pneumoniae* resistentes a várias drogas e contra cepas de *Candida albicans*¹³, além disso recentemente foi demonstrado que as frações acetato de etila e aquosa obtidas das partes aéreas desta espécie apresentam atividades antinociceptiva e anti-inflamatória em camundongos¹⁴.

Após levantamento da literatura, poucos estudos farmacológicos foram encontrados, sendo assim para maior compreensão da atividade toxicológica desta espécie, este trabalho tem o objetivo de investigar o potencial toxicológico do extrato etanólico das folhas de *P. stipulacea* através do ensaio *in vitro* de fragilidade osmótica em eritrócitos de carneiro, teste capaz de promover uma avaliação preliminar da toxicidade de extratos vegetais.



Figura 1: *Piptadenia stipulacea*

Fonte: Plantas do Brasil, 2012.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Extrato Etanólico das Folhas

O extrato etanólico das folhas de *P. stipulacea* utilizado no experimento foi doado pelo Laboratório de Cancerologia do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

2.2 Ensaio de Fragilidade Osmótica

A técnica de fragilidade osmótica realizada baseou-se na metodologia descrita por Dacie e Lewis (1975). Amostras de sangue de carneiro comercial (Laborclin®) (25 μ L) foram expostas ao extrato, durante 30 minutos a temperatura ambiente em diferentes concentrações sendo estas de, 50 μ g/mL, 100 μ g/mL, 250 μ g/mL, 500 μ g/mL, 750 μ g/mL e 1000 μ g/mL diluídas em solução isotônica de cloreto de sódio 0,9%. Em seguida, as soluções com as amostras foram centrifugadas à 2500rpm, por 3 minutos a 25°C. O controle negativo foi realizado com solução isotônica de cloreto de sódio 0,9% e o controle positivo com água destilada, os quais receberam os mesmos procedimentos empregados nas amostras testes. O ensaio foi realizado em triplicata e o percentual hemolítico foi estabelecido com controle positivo sendo designado como 100%. O grau de hemólise foi avaliado, qualitativamente, pela tonalidade avermelhada (hemólise) no sobrenadante obtido após a centrifugação. Foram atribuídas “cruzes” a intensidade de hemólise, onde uma cruz (+) indica ligeira hemólise, duas cruzes (++) hemólise significativa e três cruzes (+++) indicam hemólise intensa.

2.3 Observação Morfológica dos eritrócitos.

As amostras dos pellets centrifugadas dos grupos controle negativo, controle positivo e o tratado com o extrato etanólico de folhas de *P. stipulacea*, foi realizado

esfregação em lâmina de vidro e as preparações histológicas coradas através de técnica Coloração de hematoxilina e eosina. Preparações histológicas foram observadas através de microscópio óptico conectado a Câmera Leica DFC-280 em aumento de 1000x. Para cada grupo foi analisado o aspecto morfológico e/ ou hemólise dos eritrócitos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ensaio de Fragilidade Osmótica

O extrato etanólico de folhas de *P. stipulacea* nas diferentes concentrações (50µg/mL, 100µg/mL, 250µg/mL, 500µg/mL, 750µg/mL e 1000µg/mL), não apresentou fragilidade osmótica, quando avaliado, qualitativamente, pela tonalidade avermelhada (hemólise) no sobrenadante obtido após a centrifugação, permanecendo límpida a solução de soro fisiológico, caracterizando integridade das hemácias, que permaneceram no fundo dos tubos, com formação de um precipitado, sem que tenha havido a lise das células. A tabela 1 representa os resultados do ensaio da fragilidade osmótica atribuídas por sinais: mais (+) ou menos (-). Intensidade de hemólise onde uma cruz (+) indica ligeira hemólise ou menos (-) indica ausência hemólise.

A ação hemolítica dos diferentes compostos tóxicos é atribuída a vários mecanismos inespecíficos. Como por exemplo, os compostos surfactantes, que produzem seu efeito hemolítico por meio da solubilização da membrana plasmática do eritrócito, ou pela lise osmótica, que promove alterações na permeabilidade da membrana plasmática da hemácia¹⁵.

Em contrapartida, os compostos xenobióticos reduzidos, como os compostos fenólicos, são capazes de promover hemólise por meio da oxidação da hemoglobina, formando meta-hemoglobulina³.

Em nosso estudo não foi demonstrada atividade hemolítica do extrato etanólico de folhas de *P. stipulacea* nas concentrações testadas.

Entretanto este resultado, não exclui a existência de toxicidade, uma vez que maiores concentrações de extrato ainda não foram testadas e poucos estudos farmacológicos com a espécie que é encontrada na literatura.

| Grupos | Concentrações (µg/ml) | Hemólise |
|---------------------------------|-----------------------|----------|
| Extrato de <i>P. stipulacea</i> | 50 | - |
| | 100 | - |
| | 250 | - |
| | 500 | - |
| | 750 | - |
| | 1000 | - |
| Controle (+) | Água Destilada | + |

Tabela 1: Ensaio da Fragilidade osmótica do sangue de carneiro tratado com do extrato etanólico de folhas de *P. stipulacea*

Legenda: (-) ausência de hemólise, (+) ligeira hemólise, (++) hemólise significativa, (+++) hemólise intensa.

3.2 Estudo morfológico dos eritrócitos.

Observações histológicas são importantes ferramentas para detectar alterações histofisiológicas nas funções dos órgãos, tecidos e células.

A observação morfológica dos eritrócitos obtidos de sangue de carneiro após tratamento com o extrato etanólico de folhas de *P. stipulacea* está representado na figura 2 (A, B, C, D, E, F, G, H). As observações histológicas das preparações dos esfregaços do sangue de carneiro após o tratamento com o extrato etanólico das folhas de *P. stipulacea* não mostrou qualquer alterações morfológicas nos eritrócitos do ensaio de fragilidade osmótica, quando comparado com o grupo controle negativo (figura 2G), com o grupo controle positivo (figura 2H).

O ensaio de toxicidade *in vitro* com o extrato etanólico das folhas de *P. stipulacea* não evidenciou alterações na morfologia eritrocitária. Desta forma, este estudo demonstrou ausência de dano à membrana eritrocitária. Estudos similares verificaram alterações no perfil osmótico em eritrócitos quando incubados com extratos vegetais^{17, 18}. É afirmativo, portanto, que eritrócitos incubados com produtos naturais podem sofrer um distúrbio em sua estrutura e citoesqueleto causado por alteração do coeficiente de partição na membrana destas células¹⁹. Desta maneira, alterações provocadas na estrutura da membrana plasmática modificam o transporte de íons, causando ou não a lise celular, estudos obtiveram aumento e diminuição da fragilidade osmótica, devido ação de extratos de *Indigofera suffruticosa* e *Turnera subulata*, respectivamente^{20, 21}. A liberação de hemoglobina no plasma ocasionada pela hemólise, que consiste na lise eritrocitária, pode gerar situações de riscos ao organismo, entre elas danos aos rins (nefrotoxicidade), e ao coração (efeito vasomotor). A liberação de íons potássio resultante de processos hemolíticos somada a rápida liberação de K^+ no meio extracelular, ainda pode levar à parada cardíaca e a morte²², em vista disso negativa atividade hemolítica encontrada neste estudo, pode ser um indicativo de atividade protetora do extrato de *P. stipulacea*, considerando-se que a citotoxicidade *in vitro* utilizando eritrócitos nos permite investigar tanto o efeito tóxico como protetor de princípios ativos sobre a membrana celular²³. A ação hemolítica dos diferentes compostos vegetais é atribuída a vários mecanismos inespecíficos, como por exemplo, os compostos surfactantes que produzem seu efeito hemolítico por meio da solubilização da membrana plasmática, ou pela lise osmótica, promovendo alterações na permeabilidade das hemácias¹⁵. Desta forma, em nossos dados é provável que não haja dano à membrana eritrocitária.

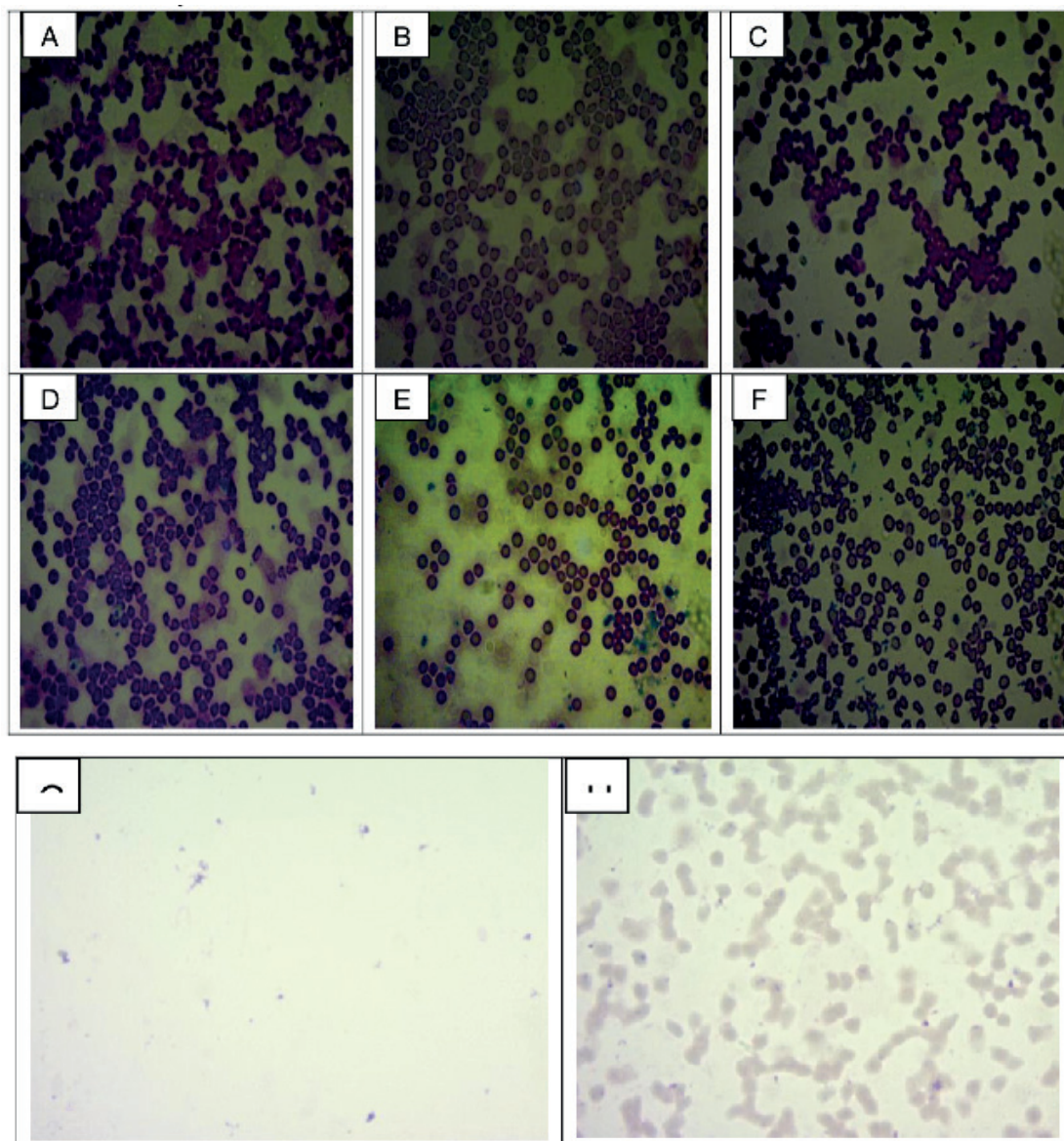


Figura 2 - Fotomicrografia de eritrócitos de sangue de carneiro: (A) Extrato na concentração de $50\mu\text{g/mL}$, (B) Extrato na concentração de $100\mu\text{g/mL}$, (C) Extrato na concentração de $250\mu\text{g/mL}$, (D) Extrato na concentração de $500\mu\text{g/mL}$, (E) Extrato na concentração de $750\mu\text{g/mL}$ (F) Extrato na concentração de $1000\mu\text{g/mL}$ (G) Controle Negativo (H) Controle Positivo Coloração de hematoxilina e eosina. Aumento de 100x.

4 | CONCLUSÕES

O ensaio de toxicidade *in vitro* com o extrato etanólico das folhas de *P. stipulacea* não apresentou atividade hemolítica, nem alterações na morfologia dos eritrócitos. Entretanto, mais estudos futuros devem ser realizados com extratos em concentrações maiores, bem como o teste em diferentes metodologias.

REFERÊNCIAS

1. BAGATINI, Margarete Dulce; SILVA, Antonio Carlos Ferreira da; TEDESCO, Solange Bosio. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Rev Bras Farmacogn*, v. 17, n. 3, p. 444-7, 2007.

2. SCOPEL, Marina. Análise botânica, química e biológica comparativa entre flores das espécies *sambucus nigra* L. e *sambucus australis* cham. & Schltdt. e avaliação preliminar da estabilidade. 2005.
3. BUKOWSKA, Bozena; KOWALSKA, Sylwia. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. **Toxicology letters**, v. 152, n. 1, p. 73-84, 2004.
4. HARBELL, J. W. et al. IRAG working group 4: cell cytotoxicity assays. **Food and chemical toxicology**, v. 35, n. 1, p. 79-126, 1997.
5. HEYWOOD, V. H. In: Flowering Plants of the World. B.T. Batsford Ltd – London, 149-152, 1996.
6. STEVENS, P.F. Angiosperm Phylogeny website, 2001. Disponível em: <http://www.mobot.org>. Acesso em: 20 outubro 2017.
7. CARDOSO, N.A.R. Metabolitos isolados dos galhos e folhas de *Piptadenia gonoacabtha* (Mart.) J.F. Macbr. (Leguminosae) e das flores de *Laseguea erecta* Mull. Arg. (Apocynaceae) 2006. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
8. JOBSON, Richard W.; LUCKOW, Melissa. Phylogenetic study of the genus *Piptadenia* (Mimosoideae: Leguminosae) using plastid trnL-F and trnK/matK sequence data. **Systematic Botany**, v. 32, n. 3, p. 569-575, 2007.
9. PAULINO DE ALBUQUERQUE, Ulysses; DE HOLANDA CAVALCANTI ANDRADE, Laise. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**, v. 27, n. 7, p. 336-346, 2002.
10. DE VASCONCELLOS BARBOSA, Maria Regina. Vegetação e flora no Cariri Paraibano. **Oecologia brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 313-322, 2007.
11. FABRICANTE, Juliano Ricardo; DE ANDRADE, Leonaldo Alves. Análise estrutural de um remanescente de caatinga no Seridó Paraibano. **Oecologia brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 341-349, 2007.
12. CHIAPPETA, A.D.A.; DE MELLO, J.F. Higher Plants with Biological Activity. Plants os Pernambuco. II. III. Revista do Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, v.11, n. (1/2), p.99-11, 1984.
13. BEZERRA, Denise AC. Estudo fitoquímico, bromatológico e microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Campina Grande, PB. apresentada como dissertação de mestrado, Departamento de Zootecnia, UFCG**, 2008.
14. QUEIROZ, A. C.; LIRA, D.P.; DIAS, T.L.M.F.; SOUZA, E.T.M.C.B.B; AQUINO, A.B.; SILVA, L.H.A.C.; SILVA, D.J.C.; MELLA, E.A.C.; AGRA, M.F.; FILHO, J.M.B.; ARAÚJO-JÚNIOR, J.X.; SANTOS, B.V.O.; ALEXANDRE-MOREIRA, M.S. The antinociceptive and anti-inflammatory activities os *Piptadenia stipulaceae* Benth. (Fabaceae). **Journal os Ethnopharmacology**, v. 128, p. 377-383, 2010.
15. APARICIO, Rosa M. et al. In vitro studies of the hemolytic activity of microemulsions in human erythrocytes. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 39, n. 5, p. 1063-1067, 2005.
16. FERNANDES PEQUENO, Nebson; SOTO-BLANCO, Benito. Toxicidade in vitro de plantas tóxicas: avaliação do teste de ação hemolítica. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. 1, 2006.
17. ARAÚJO, Josenildo Segundo Chaves de et al. Investigação dos efeitos citotóxico, genotóxico e antibacteriano dos taninos isolados de *Anacardium Occidentale* Linn e *Anadenanthera Macrocarpa* (Benth.) Brenan em linhagens de *Streptococcus* associados ao biofilme dental. 2013.

18. VELOSO, Carlos Arthur Gouveia. *Triagem fitoquímica e avaliação do potencial antifúngico e citotóxico das folhas de Calotropis procera (Ait.) Ait. f. (Apocynaceae)*. Monografia (Graduação). Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande – PB. 2015.
19. DIDELON, J. et al. Osmotic fragility of the erythrocyte membrane: characterization by modeling of the transmittance curve as a function of the NaCl concentration. **Biorheology**, v. 37, n. 5, 6, p. 409-416, 2000.
20. ROCHA PEREIRA, Dewson et al. **Influência de extrato aquoso de Indogosfera suffruticosa na marcação com Tecnécio-99m in vivo e in vitro**. 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
21. SILVA, Thassiany Rebeca Paiva Moura da. **Avaliação de atividades biológicas da Turnera subulata**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
22. CARVALHO, Eunice B. et al. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrado de hemácias. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 29, n. 2, p. 149-52, 2007.
23. COSTA, Amanda Justino. *Avaliação fitoquímica e potencial toxicológico do caule de Calotropis procera (Ait.) Ait. f.(APOCYNACEAE)*. 2015.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aconselhamento genético 94

Adolescentes 12

Alimento 12

Anacardium occidentale 7, 59, 60, 61, 66, 67

Atividade antioxidante 59, 65

B

Botânica 1, 3, 10

C

Clorofila 73, 77

Conteúdo fenólico 59

Crianças 12, 19

Crispr/Cas9 45, 46

D

Dieta 12

E

Espermatogênese 45

Estratégias de ensino 1

F

Ferritina 89

Fragilidade osmótica 27

L

Lagoa marginal 78

M

Myracrodruon urundeuva 7, 59, 60, 61, 66, 67

N

Nutrição 11, 14, 20

P

Piptadenia satipulaceae 23

S

Síndrome de Angelman 7, 93, 94

Síndrome de Down 5, 11, 12, 13, 19, 21

T

Toxicidade 23, 29

Translocação balanceada 7, 93, 94

Trauma cranioencefálico 36, 44

Z

Zebrafish 45, 46, 48, 49, 51, 57, 58

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-540-2

