

Renata Mendes de Freitas  
(Organizadora)

Ciências Biológicas  
Campo Promissor  
em Pesquisa

 **Atena**  
Editora

Ano 2019

Renata Mendes de Freitas  
(Organizadora)

Ciências Biológicas  
Campo Promissor  
em Pesquisa

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Lorena Prestes  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

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**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
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. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª 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 Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
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. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
C569	<p>Ciências biológicas [recurso eletrônico] : campo promissor em pesquisa / Organizadora Renata Mendes de Freitas. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Ciências Biológicas. Campo Promissor em Pesquisa; v. 1)</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-781-9 DOI 10.22533/at.ed.819191311</p> <p>1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Freitas, Renata Mendes de. II. Série.</p> <p style="text-align: right;">CDD 570</p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A coleção “Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa” é uma obra composta de dois volumes que tem como foco principal a discussão científica atual através de trabalhos categorizados e interdisciplinares abordando pesquisas, relatos de casos, resumos ou revisões que transitam nas diversas áreas das Ciências Biológicas.

A grande diversidade de seres vivos e a grande especialização das áreas de estudo da biologia, a tornam uma ciência muito envolvente, que consegue abranger todas as relações interpessoais e uma grande interdisciplinaridade com outras áreas.

O primeiro volume foi organizado com trabalhos e pesquisas que envolvem a área da Saúde em diferentes Instituições de Ensino e Pesquisa do País. Logo, neste volume poderá ser encontrado pesquisas relacionadas a anatomia humana, plantas medicinais, arboviroses, atividades antimicrobianas e antifúngicas, biotecnologia e tópicos relacionados à segurança alimentar e cuidados em saúde. O destaque desse volume é para compostos naturais que podem ser utilizados no combate e controle de diversos microorganismos.

Já o volume dois, é composto por trabalhos que envolvem o Ensino de Ciências e pesquisas científicas em Biologia, tendo destaque os trabalhos relacionados à Ecologia e Conservação ambiental, e também a divulgação da Educação Especial.

A crescente preocupação com o meio ambiente e o consumo sustentável trazem reflexões que atingem nossa fauna e flora; os atuais processos de ensino e aprendizagem oferecem um plano de fundo às discussões referentes ao melhoramento das abordagens educacionais nas diferentes esperas de ensino.

Conteúdos relevantes são, deste modo, apresentados e discutidos com a proposta de fundamentar e apoiar o conhecimento de acadêmicos, mestres e doutores das amplas áreas das Ciências Biológicas.

Renata Mendes de Freitas

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A FISIOTERAPIA NA REABILITAÇÃO FUNCIONAL DO PORTADOR DE MALFORMAÇÃO ARTERIOVENOSA CEREBRAL	
Camila Ferreira Alves Natália Ramalho Figueredo Diana Marrocos de Oliveira Lara Beluzzo e Souza Priscila Andrade da Costa Sting Ray Gouveia Moura Patrícia Cordeiro Oliveira Rodrigo Canto Moreira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8191913111</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>8</b>
ANÁLISE DAS TÉCNICAS DE CONSERVAÇÃO DE CADÁVERES PARA O ESTUDO EM ANATOMIA HUMANA	
Rodrigo Montenegro Barreira Natália Stefani de Assunção Ferreira Alan Hílame Diniz Gomes Afrânio Almeida Barroso Filho João Rocha de Lucena Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8191913112</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>13</b>
ACUPUNTURA COMO TERAPIA PARA O ESTRESSE	
Ricardo Morad Bassetto Isabel Cristina Céspedes Regina Celia Spadari	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8191913113</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>26</b>
ATENÇÃO FARMACÊUTICA AOS PACIENTES COM GLAUCOMA: UMA REVISÃO DE LITERATURA	
Jeane Cristina Viotti Hidalgo Simone Aparecida Biazzi de Lapena Fernanda Malagutti Tomé	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8191913114</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>34</b>
ATUAÇÃO DA VITAMINA D E SEU RECEPTOR SOBRE PROCESSOS IMUNOLÓGICOS E PERFIS IMUNOGENÉTICOS RELACIONADOS À HANSENÍASE	
Jasna Leticia Pinto Paz Letícia Siqueira Moura Karla Valéria Batista Lima Luana Nepomuceno Gondim Costa Lima	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8191913115</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 44**

**AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E PESO CORPORAL EM CAMUNDONGOS SWISS MACHOS TRATADOS COM EXTRATO METANÓLICO DE PLANTA MEDICINAL**

Dayane de Melo Barros  
Priscilla Gregorio de Oliveira Sousa  
Danielle Feijó de Moura  
Marton Kaique de Andrade Cavalcante  
Merielly Saeli de Santana  
Marllyn Marques da Silva  
Silvio Assis de Oliveira Ferreira  
Laryssa Rebeca de Souza Melo  
Gisele Priscilla de Barros Alves Silva  
José André Carneiro da Silva  
Ana Cláudia Barbosa da Silva Padilha  
Isla Ariadny Amaral de Souza Gonzaga  
Roberta de Albuquerque Bento da Fonte  
Tamiris Alves Rocha

**DOI 10.22533/at.ed.8191913116**

**CAPÍTULO 7 ..... 52**

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Moringa oleifera*: APLICAÇÕES NA SAÚDE E POTENCIAL TECNOLÓGICO**

João Xavier da Silva Neto  
Ana Paula Apolinário da Silva  
João Paulo Apolinário da Silva  
Luciana Freitas Oliveira  
Thiago Fernandes Martins  
Luiz Francisco Wemmenson Gonçalves Moura  
Guilherme Angelo Lobo  
Lucas Pinheiro Dias  
Bruno Bezerra da Silva  
José Ytalo Gomes da Silva  
Ana Cláudia Marinho da Silva  
Arnaldo Solheiro Bezerra

**DOI 10.22533/at.ed.8191913117**

**CAPÍTULO 8 ..... 59**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* e *IN VIVO* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS SOBRE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

Amanda Pohlmann Bonfim  
Andressa Gimenes Braga  
Karina Mayumi Sakita  
Daniella Renata Faria  
Glaucia Sayuri Arita  
Franciele Abigail Vilugron Rodrigues Vendramini  
Isis Regina Grenier Capoci  
Marcos Luciano Bruschi  
Érika Seki Kioshima  
Patrícia de Souza Bonfim-Mendonça  
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski

**DOI 10.22533/at.ed.8191913118**

<b>CAPÍTULO 9</b> .....	<b>72</b>
BIOENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REPELENTE EM MOSQUITOS ADULTOS	
Fabíola da Cruz Nunes	
Maria de Fátima Vanderlei de Souza	
Diégina Araújo Fernandes	
Maria Denise Leite Ferreira	
Louise Helena Guimarães de Oliveira	
Gustavo De Figueiredo	
Hyago Luiz Rique	
<b>DOI 10.22533/at.ed.81919131119</b>	
<b>CAPÍTULO 10</b> .....	<b>86</b>
DIAGNÓSTICO, IMPLANTAÇÃO E AVALIAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO EM UMA CANTINA UNIVERSITÁRIA DE RIBEIRÃO PRETO – SP	
Raphael Petrorossi Pita	
Luciano Menezes Ferreira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.81919131110</b>	
<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>98</b>
EDIÇÃO GENÉTICA ATRAVÉS DO CRISPR PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS	
Jonas Ribeiro da Rosa	
Fernanda Marconi Roversi	
Lucas de Souza Ramalhaes Feitosa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.81919131111</b>	
<b>CAPÍTULO 12</b> .....	<b>117</b>
ESTRATÉGIAS CIRÚRGICAS QUE PROMOVEM A REGENERAÇÃO DO NERVO PERIFÉRICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	
Pedro Walisson Gomes Feitosa	
Tatianne Régia Gomes Ribeiro	
Estelita Lima Cândido	
João Antônio da Silva Neto	
Esther Barbosa Gonçalves Felix	
Janaina Carneiro Lima	
Hellen Karen Almeida Pereira	
Iago Sávyo Duarte Santiago	
Yasmin de Alencar Grangeiro	
Maria Stella Batista de Freitas Neta	
Maria Andrezza Gomes Maia	
<b>DOI 10.22533/at.ed.81919131112</b>	
<b>CAPÍTULO 13</b> .....	<b>134</b>
MATURAÇÃO DE BIOFILME, DISPERSÃO CELULAR E RESISTÊNCIA À ANFOTERICINA B DE UMA CEPA DO COMPLEXO <i>Fusarium solani</i> SOBRE CATETER VENOSO	
Alana Fernanda Luzia Salvador	
Flavia Franco Veiga	
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski	
Melyssa Fernanda Norman Negri Grassi	
<b>DOI 10.22533/at.ed.81919131113</b>	

**CAPÍTULO 14 ..... 140**

NOTIFICAÇÃO DOS EVENTOS ADVERSOS PÓS-VACINAÇÃO EM CRIANÇAS DE 0 A 5 ANOS

Zannety Conceição Silva do Nascimento Souza

Tuany Peixoto Ramos

Raquel Vieira Farias

Karine Emanuelle Peixoto de Souza

Juliana de Oliveira Freitas Miranda

Maricélia Maia de Lima

**DOI 10.22533/at.ed.81919131114**

**CAPÍTULO 15 ..... 153**

NOVAS TERAPIAS E ALTERNATIVAS PARA O MELANOMA EM ESTÁGIOS AVANÇADOS

Layene Caetano Ireno

Karina Furlani Zoccal

Cristiane Tefé-Silva

**DOI 10.22533/at.ed.81919131115**

**CAPÍTULO 16 ..... 160**

OS BENEFÍCIOS DO USO DAS FOLHAS DE *M. EMARGINATA* (ACEROLEIRA) PARA A SAÚDE ORGÂNICA

Cristiane Moutinho Lagos de Melo

Bárbara Rafaela da Silva Barros

Dayane Kelly Dias do Nascimento

Ricardo Sérgio da Silva

Lethícia Maria de Souza Aguiar

Georon Ferreira de Sousa

Iranildo José da Cruz Filho

**DOI 10.22533/at.ed.81919131116**

**CAPÍTULO 17 ..... 175**

PROTEÍNA  $MO-CBP_2$  EXERCE ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE A DIFERENTES ESPÉCIES DE *CANDIDA* E OCASIONA INIBIÇÃO DE  $H^+$ -ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA

João Xavier da Silva Neto

Larissa Alves Lopes

Eva Gomes Moraes

Francisco Bruno Silva Freire

Ana Paula Apolinário da Silva

Bruno Bezerra da Silva

João Paulo Apolinário da Silva

Luciana Freitas Oliveira

Thiago Fernandes Martins

Claudia Johana Pérez Cardozo

Johny de Souza Silva

Daniele de Oliveira Bezerra de Sousa

**DOI 10.22533/at.ed.81919131117**

**CAPÍTULO 18 ..... 182**

OS EFEITOS DA MICROCORRENTE E DO OLIGOELEMENTO SELÊNIO NAS DISFUNÇÕES TECIDUAIS DA FACE DO TABAGISTA

Cristiane Rissatto Jettar Lima

Anne Dryelle De Souza Silva

Isabela Mayara Souza Santos

Edneia Nunes Macedo

Jovira Maria Sarraceni

Luciana Marcatto Fernandes Lhamas

Suelen Moura Zanquim Silva  
DOI 10.22533/at.ed.81919131118

**CAPÍTULO 19 ..... 194**

PLANTAS MEDICINAIS COM POTENCIAL LEISHMANICIDA NA AMAZÔNIA

Arnold Patrick de Mesquita Maia  
Beatriz dos Reis Marcelino  
Daniely Alves Almada  
Tainá Soares Martins  
Taís Amaral Pires dos Santos  
Josiane do Socorro Vieira  
Sebastião Ribeiro Xavier Júnior  
Silvane Tavares Rodrigues

DOI 10.22533/at.ed.81919131119

**CAPÍTULO 20 ..... 207**

REABILITAÇÃO NEUROMOTORA PARA O PACIENTE COM TRAUMA RAQUIMEDULAR - SÍNDROME DE BROWN SÉQUARD

Diana Marrocos de Oliveira  
Natália Ramalho Figueredo  
Camila Ferreira Alves  
Priscila Andrade da Costa  
Sting Ray Gouveia Moura  
Patrícia Cordeiro Oliveira  
Rodrigo Canto Moreira

DOI 10.22533/at.ed.81919131120

**CAPÍTULO 21 ..... 215**

TÉCNICAS DE CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DE INSETÁRIOS DE MOSQUITOS *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: CULICIDAE)

Fabiola da Cruz Nunes  
Louise Helena Guimarães de Oliveira  
Hyago Luiz Rique  
Gabriel Joventino do Nascimento

DOI 10.22533/at.ed.81919131121

**CAPÍTULO 22 ..... 225**

TRIAGEM FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Mansoa difficilis* E *Hippocratea volubilis*

Mayara Cristina Neves Abel  
Letícia Pezenti  
Nathani Fernandes Alves Silva  
Bruno Henrique Feitosa  
Ana Francisca Gomes da Silva

DOI 10.22533/at.ed.81919131122

**CAPÍTULO 23 ..... 232**

UTILIZAÇÃO DE TÍBIAS SECAS DE ADULTOS NA ESTIMATIVA DO SEXO E IDADE POR MEIO DE MEDIDAS LINEARES

Rinaldo Alves da Silva Rolim Junior  
Amanda Santos Meneses Barreto  
Bruna Maria Barros de Jesus  
Gabrielle Souza Silveira Teles  
Kellyn Mariane Souza Sales  
Mylla Crislley Trindade Carvalho  
Renata Queiroz Corrêa

ErasmO de Almeida Júnior

DOI 10.22533/at.ed.81919131123

<b>SOBRE A ORGANIZADORA.....</b>	<b>234</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO .....</b>	<b>235</b>

## A FISIOTERAPIA NA REABILITAÇÃO FUNCIONAL DO PORTADOR DE MALFORMAÇÃO ARTERIOVENOSA CEREBRAL

### **Camila Ferreira Alves**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Natália Ramalho Figueredo**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Diana Marrocos de Oliveira**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Lara Beluzzo e Souza**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Priscila Andrade da Costa**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Sting Ray Gouveia Moura**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Patrícia Cordeiro Oliveira**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Rodrigo Canto Moreira**

Instituição: Faculdade Pan-amazônica –  
Faculdade Paraense de Ensino  
Belém - Pará

**RESUMO:** A Malformação Arteriovenosa Cerebral (MAV) é uma patologia que decorre da não interposição de capilares entre artérias e veias durante o período da embriogênese, sendo caracterizada como uma falha no sistema circulatório ocasionada por uma rede emaranhada de artérias, veias e vasos malformados. Esta patologia é comumente encontrada no sistema nervoso central causando disfunção encefálica após microlesões vasculares. O objetivo desse trabalho é relatar o caso e a conduta fisioterapêutica para sequelas de MAV, com vistas a evidenciar a evolução terapêutica do paciente envolvido. Os artigos que deram base à pesquisa foram publicados a partir do ano de 2012, possuem cunho experimental ou relato de caso; e estão disponíveis nas plataformas Biblioteca Virtual em Saúde (BVS); Scielo; Lilacs e Google Acadêmico. Ao final, pode-se identificar que para quadros brandos de sequelas de AVC por MAV a cinesioterapia e mecanoterapia podem ser suficientes para a manutenção da funcionalidade e ganho de força muscular. Além disso, faz-se necessária a identificação de riscos para o paciente portador de MAV durante a reabilitação baseada em técnicas que possam alterar o fluxo sanguíneo e a pressão arterial sistêmica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Malformação Arteriovenosa; Acidente vascular; Hemorragia; Reabilitação; Fisioterapia.

## PHYSIOTHERAPY IN FUNCTIONAL REHABILITATION OF BRAIN ARTERIOVENOUS MALFORMATION CARRIER

**ABSTRACT:** Brain Arteriovenous Malformation (AVM) is a condition that results from the non-interposition of capillaries between arteries and veins during the embryogenesis period, being characterized as a failure in circulatory system caused by a tangled network of malformed arteries, veins and vessels. This condition is commonly found in central nervous system causing brain dysfunction after vascular microlesions. The objective of this paper is to report the case and physiotherapeutic conduct for AVM sequelae, in order to highlight therapeutic evolution of patient involved. The articles based on the research were published from the year 2012, hAVC experimental nature or case report; and are available on Virtual Health Library (VHL) platforms; Scielo; Lilacs and Google Scholar. In the end, it can be identified that for mild cases of AVM stroke sequelae, kinesiotherapy and mechanotherapy may be sufficient to maintain functionality and gain muscle strength. In addition, it is necessary to identify risks for the patient with AVM during rehabilitation based on techniques that may alter blood flow and systemic blood pressure.

**KEYWORDS:** Arteriovenous Malformation; Vascular accident; Bleeding; Rehabilitation; Physiotherapy.

### 1 | INTRODUÇÃO

A Malformação Arteriovenosa (MAV) é uma doença vascular de caráter congênito rara, que acomete principalmente o encéfalo, caracterizada por um enovelado de vasos tortuosos oriundos de um distúrbio fisiológico na formação da conexão entre artérias e veias, que se conectam sem a mediação de estruturas capilares. Este fato faz com que a elevada pressão sanguínea oriunda da vascularização arterial seja sentida nas paredes das veias, onde passam a apresentar forte tendência à ruptura vascular (BEZERRA et al., 2012).

Caracterizam-se por comunicação anormal entre artérias e veias, interpostas por tecidos malformados, conhecidos como nicho ou nidus. Com a evolução da doença, as veias tornam-se mais distendidas e evidentes, podendo provocar uma ruptura dos vasos e uma conseqüente hemorragia, que é considerada uma complicação bastante importante, podendo levar o paciente a óbito (FARIA et al., 2017; KUMAR et al., 2013).

Geralmente, a localização da MAV envolve a região da artéria cerebral média, chegando às superfícies dos hemisférios cerebrais com potencial de alcançar a região do córtex cerebral, leptomeninge, e parte da substância branca. A incidência ocorre entre os 10 à 30 anos de idade, sendo a razão de 2:1 entre homens e mulheres, respectivamente. Cerca de 2% dos casos de Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico são causados pela ruptura dos vasos na malformação arteriovenosa

(KUMAR et al., 2013; BEZERRA et al., 2012).

Para Diagnóstico clínico pode-se utilizar a angiografia cerebral, que é considerado o método de escolha para o diagnóstico precoce, sendo realizado de acordo com os sinais de localização da MAV cerebral. A ressonância magnética nuclear (RMN) melhor evidencia a extensão da lesão, também diferenciando a MAV de um hemangioma, malformação venosa ou linfática (MELO; LOPES, 2013; KUMAR et al., 2013).

As MAVs cerebrais podem ser assintomáticas e, por isso, alguns casos são descobertos de forma inesperada e sem que haja qualquer indicio de acometimento do tecido vascular. Porém, quando os sintomas surgem, podem-se observar manifestações clínicas diversas, leves ou grAVCs, a depender de sua localização. Dentre os sintomas mais comuns observam-se: Convulsões, cefaleia, fraqueza muscular, alterações na fala e na visão (KUMAR et al., 2013).

A gravidade da patologia e suas repercussões na qualidade de vida do paciente tornam o tema relevante para a comunidade científica que busca alternativas de minimizar os agravos a saúde humana incessantemente (BEZERRA et al., 2012). Por tanto, a presente investigação apresenta um relato de caso de um paciente submetido voltados a reabilitação de sequelas provocadas pelas microlesões vasculares junto ao sistema nervoso central de pacientes com MAV cerebral, bem como apresentar os resultados da conduta proposta.

## **2 | MATERIAL E MÉTODOS**

Para construção do presente artigo, foi desenvolvido um relato de caso de caráter qualitativo, com referências oriundas de base artigos nacionais publicados em revistas indexadas da área da saúde. Além disso, os pesquisadores buscaram se valer de bibliografia recente, publicada após o ano de 2012, para que os estudos discutidos na narrativa possuam maior fidelidade aos mais novos métodos e técnicas fisioterapêuticos e últimos achados científicos sobre o tema.

Os artigos selecionados para dar base à discussão do presente estudo foram pesquisados na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), livros da biblioteca Dante Alighieri da Faculdade Metropolitana de Marabá, Scielo (Scientific Electronic Library on line), Lilacs e Google Acadêmico.

Os pesquisadores utilizaram somente a observação do atendimento feito por profissional graduado em fisioterapia e realizaram análise de prontuários para obter informações complementares.

## **3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Paciente, W.P.C. sexo masculino, 38 anos, pardo, desempregado, residente na cidade de Marabá-PA, localizada na região sudeste do Estado do Pará. Segundo

informações colhidas junto ao prontuário, o paciente foi diagnosticado com MAV cerebral em fevereiro de 2013 após o aparecimento dos primeiros sintomas, que envolveram crises convulsivas com posterior redução de força e amplitude de movimentos. Apresentou os primeiros episódios de fraqueza muscular súbita associado à parestesia.

A MAV cerebral provoca um impacto negativo na vida do paciente, devido à limitação funcional no cotidiano, por isso a importância da atuação do fisioterapeuta no processo de reabilitação (KUMAR et al., 2013).

Devido ao constante tratamento fisioterapêutico o qual o paciente foi submetido, a espasticidade foi um fator que comprometeu a funcionalidade do hemicorpo direito, mas não incapacitou. Dentre as disfunções ocasionadas pela MAV cerebral, a espasticidade caracteriza-se por limitação do movimento articular ativo e/ou passivo devido à hipertonicidade (ZUGE et al., 2017).

No período em que esteve hospitalizado, o sujeito realizou Tomografia Computadorizada de crânio, evidenciando discreta hemorragia subdural no lobo frontal esquerdo, correspondente a AVC hemorrágico agudo. Permaneceu internado durante sete dias.

Vale ressaltar que quando as MAV's se rompem, o sangramento provocado podem causar diversas disfunções neurológicas relacionadas às funções motoras, dentre as principais temos: espasticidade, hemiparesia, déficits da força muscular, diminuição da amplitude de movimento (ADM), alteração do equilíbrio, coordenação e da marcha, comprometendo a realização das atividades de vida diária (AVD's) e a qualidade de vida do mesmo (BEZERRA et al., 2012). Alguns destes sintomas foram evidentes no quadro agudo e nas sequelas deixadas pelo AVC oriundo de MAV no paciente em questão.

Entre o diagnóstico e o início do presente acompanhamento fisioterapêutico, houve um período de tratamento em clínicas voltadas a reabilitação Traumatológica ortopédica devido à carência de serviço de reabilitação neurológica na região. Foi admitido na Clínica Escola da Faculdade metropolitana de Marabá dia 08 de agosto de 2017. Em seu relato colido em prontuário, identificou-se que não possui casos da doença na família, não apresenta histórico de patologias pregressas ou associadas.

Em seu último ciclo de sessões, a avaliação inicial realizada em fevereiro de 2018 revelou déficit de força (grau 3), diminuição de coordenação motora fina; alterações de equilíbrio estático e dinâmico; redução de ADM ativa para todos os movimentos do hemicorpo acometido; levando-o à limitação funcional para atividades de vida diária (AVD's), principalmente para a função da marcha, que possui padrão ceifante. Além disso, o paciente relata perda auditiva e de acuidade visual.

Baseado nos dados obtidos foi definido o diagnóstico fisioterapêutico, plano de tratamento incluindo objetivos e condutas que envolveram Facilitação Neuromuscular Proprioceptiva; alongamentos; treinos para MSD com contensão induzida; bandagens funcionais; exercícios resistidos com anilhas, tornozeleiras e halteres; tábua de

propriocepção; cama elástica; treino de marcha em barras paralela respeitando suas fases fisiológicas; treino de coordenação motora fina na preensão em pinça e movimentos de precisão no posicionamento de pequenos objetos.

Um dos métodos que a fisioterapia dispõe para ganho de força e trofismo é a eletroestimulação por Corrente Russa. A mesma consiste em uma estimulação elétrica com corrente alternada, modulada de média frequência, sendo capaz de atingir estruturas teciduais musculares profundas. Isto se deve ao fato de que a corrente ativa um maior número de unidades motora que um indivíduo poderia ativar voluntariamente (GUIMARÃES et al., 2013).

Alguns autores preconizam que a utilização de termoterapia é eficaz para a manutenção da funcionalidade intrínseca aos músculos por proporcionar uma série de respostas fisiológicas que facilitam a condução da reabilitação. Rochedo e colaboradores (2017) relataram que a termoterapia é bastante eficaz para o tratamento da espasticidade, pois proporciona um resultado relaxante sobre o tônus musculoesquelético. O uso do calor local promove o relaxamento dos músculos devido a diminuição simultânea do limiar de disparo das vias neuronais eferentes gama, reduzindo a excitabilidade dos fusos musculares e proporcionando o aumento da atividade dos órgãos tendinosos de Golgi.

Segundo o mesmo autor supracitado, a crioterapia, quando utilizada em temperatura variada entre 0°C e 18,3°C, também é bastante eficaz na diminuição da espasticidade, devido ocorrer a redução do processo de reflexo de estiramento do músculo.

O tratamento contou com três sessões semanais e foi concluído em abril de 2018. Essa etapa buscou dar enfoque a cinesioterapia e mecanoterapia, já que a queixa principal do paciente era o maior comprometimento funcional está presente em seu desempenho para algumas atividades de vida diária como andar de ônibus, varre casa, conduzir o carrinho de compras e dirigir automóveis.

Após 20 sessões, o paciente apresentou ganho de força em MMII (grau 4) e apresenta bom desempenho em testes de equilíbrio dinâmico e da função de marcha, apesar da dificuldade na coordenação motora persistir, sendo indicada a realização de terapia ocupacional.

Apesar de autores como De Almeida (2017); Silva et al. (2015), apontarem o biofeedback visual como método positivo na restauração do equilíbrio; Zuge (2017) e Schuster (2016), relatarem que a estimulação elétrica funcional (FES) é um recurso terapêutico voltado a melhorar a marcha e sua velocidade, inibição temporária de espasticidade, redução de contraturas e retardamento de atrofia; o presente estudo mostra que somente a cinesioterapia e mecanoterapia utilizadas isoladamente para um quadro clínico favorável de sequelas e AVC por MAV cerebral é suficiente para o aparecimento de bons resultados.

## 4 | CONCLUSÃO

Uma grande severidade envolvem as disfunções ocasionadas pela MAV cerebral. Sua repercussão afeta a funcionalidade e qualidade de vida do indivíduo. Logo, a fisioterapia torna-se um método essencial para a recuperação da autonomia do paciente sobre suas atividades cotidianas.

Apesar de pouco se falar sobre a reabilitação para as sequelas de MAV no cérebro, a literatura voltada a reabilitação é muito vasta, abrindo oportunidade para novas abordagens serem testadas e suas eficácias comprovadas. Durante a observação feita pelos pesquisadores, os cuidados com um paciente que apresente MAV são distintos aos de um paciente com sequelas neurológicas de um AVC hemorrágico típico, tendo em vista que a Má formação permanece junto ao paciente após os períodos de crise hemorrágica. O aumento da pressão intracraniana deve ser evitado e as técnicas de cinesioterapia e mecanoterapia devem ser feitas com monitoramento intenso da pressão arterial sistêmica.

Estudos que indiquem o quão intensas podem ser as sequelas da MAV, quais os fatores desencadeadores de crises hemorrágicas e como o tratamento fisioterapêutico pode ser feito de forma segura, precisam ser mais explorados pelos pesquisadores da área de neurologia.

Apartir de pequenas diferenças entre o paciente acometido por AVC hemorrágico típico e pelo AVC Hemorrágico por MAV será possível que os rumos de cada tratamento sejam conduzidos de modo particular, reduzindo os riscos que a própria fisioterapia pode ocasionar para novas crises após a atividade física dos programas de reabilitação, por utilizar técnicas que alteram o funcionamento do corpo humano no que tange, principalmente, ao aumento do fluxo sanguíneo e pressão arterial sistêmica.

Sendo assim, sugere-se abordagens experimentais em fisioterapia neurológica que comprovem a eficácia de cada método terapêutico de forma segura e credível em benefício do ganho de funcionalidade para o paciente com sequelas de AVC hemorrágica por MAV.

## REFERÊNCIAS

BEZERRA, Karenn Barros et al. Gastric arteriovenous malformation: treatment by embolization. **Radiologia Brasileira**, v. 45, n. 2, p. 126-128, 2012.

DE ALMEIDA VASCONCELOS, Danilo; LINS, Livia Cristina Rodrigues Ferreira; DANTAS, Estélio Henrique Martin. Avaliação da mobilização neural sobre o ganho de amplitude de movimento. **Fisioterapia em Movimento**, v. 24, n. 4, 2017.

FARIA, Ana da Conceição Alves et al. Percurso da pessoa com acidente vascular encefálico: do evento à reabilitação. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 70, n. 3, p. 495-503, 2017.

GUIMARÃES, Maria Talita dos Santos; LIEBANO, Richard Eloin. Os efeitos da estimulação elétrica aplicada nos músculos dorsiflexores em pacientes pós-AVC: uma revisão sistemática. **ConScientiae**

**Saúde**, v. 12, n. 2, p. 313-320, 2013.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. **Robbins patologia básica**. Elsevier Brasil, 2013.

MELO, Maria Mafalda; LOPES, Vítor P. Associação entre o índice de massa corporal e a coordenação motora em crianças. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, p. 7-13, 2013.

ROCHEDO, PAULA SESTI et al. Aplicação de microondas visando ganho de flexibilidade em ísquiosurais. **Revista Uningá**, v. 2, n. 1, 2017.

SCHUSTER, Rodrigo Costa; DE SANT, Cíntia Ribeiro; DALBOSCO, Vania. Efeitos da estimulação elétrica funcional (FES) sobre o padrão de marcha de um paciente hemiparético. **Acta fisiátrica**, v. 14, n. 2, p. 82-86, 2016.

SILVA, J. M. et al. Efeitos da dupla tarefa com demanda motora e demanda cognitiva na marcha de sujeitos hemiparéticos pós AVC. **Revista Neurocienc**, v. 23, n. 1, p. 48-54, 2015.

ZUGE, Richard Wagner; MANFFRA, Elisangela Ferretti. Efeitos de uma intervenção cinesioterapêutica e eletroterapêutica na cinemática da marcha de indivíduos hemiparéticos. **Fisioterapia em movimento**, v. 22, n. 4, 2017.

## ANÁLISE DAS TÉCNICAS DE CONSERVAÇÃO DE CADÁVERES PARA O ESTUDO EM ANATOMIA HUMANA

### **Rodrigo Montenegro Barreira**

Universidade Estadual do Ceará  
Fortaleza – Ceará

### **Natália Stefani de Assunção Ferreira**

Universidade Estadual do Ceará  
Fortaleza – Ceará

### **Alan Hílame Diniz Gomes**

Universidade Estadual do Ceará  
Fortaleza – Ceará

### **Afrânio Almeida Barroso Filho**

Universidade Estadual do Ceará  
Fortaleza – Ceará

### **João Rocha de Lucena Neto**

Universidade Estadual do Ceará  
Fortaleza – Ceará

**RESUMO:** A anatomia é a ciência que busca correlacionar as diversas estruturas corporais. Um dos métodos mais antigos para o estudo em anatomia é o uso de cadáveres humanos. Diante da importância de perpetuar esse estudo, a conservação do cadáver é ponto crucial do ensino na disciplina. Assim, esse breve estudou centrou-se na análise das principais técnicas de conservação de peças anatômicas trazendo as vantagens e desvantagens de cada técnica. O presente estudo levantou dados nas bases de Scielo, Lilacs, PubMed e Livros de Anatomia dos anos de 2007-2018. Ademais, convém ressaltar

que a necessidade de sempre existir pesquisas nessa área é ideal para tornar a anatomia algo acessível para o estudante.

**PALAVRAS-CHAVE:** Anatomia. Cadáver. Dissecção. Conservação. Técnicas

### ANALYSIS OF CADAVER CONSERVATION TECHNIQUES FOR THE STUDY OF HUMAN ANATOMY

**ABSTRACT:** Anatomy is the science that aims to correlate the various body structures. One of the oldest methods for studying and teaching in anatomy is the use of human cadaver. Due to the importance of perpetuating this study, the conservation of the corpse is crucial for the teaching of this discipline. Therefore, this work focused on the analysis of the main conservation techniques of anatomical parts, bringing the advantages and disadvantages of each technique. The present study collected data from the Scielo, Lilacs, PubMed and Anatomy Books databases from 2007-2018. In addition, it should be noted that the need to always have research in this area is ideal to make anatomy something accessible to the student.

**KEYWORDS:** Anatomy. Cadaver. Dissection. Conservation. Techniques.

## 1 | INTRODUÇÃO

Anatomia trata-se da ciência que se ocupa do estudo da morfologia, estrutura e arquitetura do organismo vivo. O início do uso de cadáveres para o ensino e pesquisa anatômica data de meio século anterior ao nascimento de Cristo (PONTINHA; SOEIRO, 2014). Assim, a conservação do material utilizado como estudo é ideal para que haja uma propagação de ensino entre diferentes estudantes, de forma que o conhecimento possa ser perpassado.

Atualmente, diante da dificuldade de aquisição de material para estudo, a conservação dos cadáveres e peças é um ponto crucial para o ensino da anatomia. No século XIX, surgiu o formol ou formaldeído. A técnica de conservação ainda é bastante utilizada em virtude do baixo custo e conservação por longos anos. Entretanto, o formol é um produto tóxico e volátil, que pode trazer uma série de malefícios para os indivíduos que se expõem (COOKSON; AKA; FINN, 2018). Em 1779, a glicerina apresentou um grande impulso de utilização como conservação. A glicerina possui várias vantagens, como a redução da antigenicidade do corpo conservado, além de facilidade de manuseio (PONTINHA; SOEIRO, 2014).

A plastinação surgiu no final do século XX como uma técnica que possibilita a manutenção das características originais da peça, não apresenta odor e é de fácil conservação. Porém, tal técnica apresenta alguns impasses, como o custo elevado e tempo de preparo, que pode chegar a meses (SILVA et al., 2011). Apesar do grande desenvolvimento de novas tecnologias na educação, o uso do cadáver na anatomia continua sendo chave essencial no processo de ensino-aprendizagem, pode-se notar, inclusive, que as peças artificiais não substituem com fidedignidade as características do cadáver (KERBY; SHUKUR; SHALHOUB, 2011).

O objetivo desse estudo é retratar as diversas formas de conservação de cadáveres para o estudo na anatomia demonstrando as vantagens e desvantagens em cada uma delas.

## 2 | METODOLOGIA

O presente estudo é uma revisão bibliográfica de natureza qualitativa, ou seja, que se ocupa do nível subjetivo e relacional da realidade social e é tratado por meio da história, do universo, dos significados, dos motivos, das crenças (MINAYO, 2012). Este tipo de pesquisa tem como base a análise do material, pela organização e interpretação no atendimento ao objetivo da investigação.

Para coleta de dados, foram utilizados como fonte os artigos indexados na LILACS (Literatura Latino-americana e do Caribe Ciências da Saúde), no PUBMED – NCBI, no Scielo e no Google Acadêmico. Foram considerados todos os artigos publicados, em língua portuguesa e inglesa, abordando tema relacionado aos aspectos referentes à conservação de cadáveres para o estudo na anatomia, entre

os anos de 2007 a 2018. Os descritores utilizados foram “Anatomia”, “Cadáver”, “Dissecação”, “Conservação”, “Técnicas”. Ademais, foram desconsiderados artigos em que os objetivos fossem divergentes aos desse estudo. Foram selecionados no total de 10 artigos.

Posteriormente, foi feita uma leitura mais atenta do conteúdo manifesto e feito um agrupamento para determinar unidades de registro por intermédio de recortes de trechos importantes que fossem estivessem em consonância com os objetivos desse trabalho.

### **3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As principais técnicas utilizadas como forma de conservação foram agrupadas e tratadas trazendo benefícios e malefícios.

#### **3.1 Fixação**

Na técnica de fixação, utiliza-se um fixador que atua preservando tecidos biológicos de decomposições e alterações. O formaldeído ou formol é um dos principais fixadores utilizados na atualidade. O formol apresenta propriedades antifúngicas e bactericidas (VERONEZ et al., 2010). Além disso, é classificado pela Agência Internacional de Pesquisas em Câncer como cancerígeno (FINN, 2018). O uso do formaldeído causa lacrimejamento, irritação das mucosas nasais, queimação da garganta e poderia desestimular o estudo da anatomia (KARAM et al., 2016). O principal fator que torna o formol como agente de maior utilização nas universidades seria o baixo custo empregado na técnica.

#### **3.2 Glicerinação**

Tal técnica permite a conservação sem a imersão em soluções conservadoras. A glicerina tem características fungicidas e bactericidas, pois tem a capacidade de desidratação celular. Há na literatura que tal técnica poderia proporcionar melhor preservação das peças anatômicas com vantagens, como a morfologia mantida próximo ao real (facilitando a identificação das estruturas), além de não irritar as mucosas (inodora) e não é carcinogênica (KARAM et al., 2016). A principal desvantagem seria o alto em comparação a outras técnicas, como o uso do formaldeído.

#### **3.3 Desidratação**

A desidratação consiste em retirar água das peças para a utilização. Essa técnica surgiu na tentativa de solucionar o problema da conservação e manutenção das peças em formol. Algumas peças podem ser retraídas e sofrerem algumas deformações em estruturas (CURY; CENSONI; AMBROSIO, 2013) As principais

vantagens da técnica consistem em não precisar manter as peças em soluções fixadoras e a perda total de água faz com que elas fiquem extremamente mais leves.

### 3.4 Plastinação

A plastinação, surgida em 1977, consiste numa forma moderna de “mumificação” fazendo com que os corpos tenham uma alta durabilidade. Essa técnica produz amostras secas, inodoras, duráveis e não tóxicas, fáceis de manusear e que podem ser armazenadas em temperatura ambiente indefinidamente. No processo de plastinação, a água e os lipídios nos tecidos biológicos são substituídos por polímeros curáveis, como silicone, epóxi e resina de poliéster, por impregnação a vácuo forçada. Esta técnica possui grandes vantagens como a boa conservação sem a necessidade de manutenção. Outro benefício seria que não há necessidade de se utilizar o formaldeído, substância tóxica, como forma de manutenção das peças. Entretanto, trata-se de uma técnica relativamente recente e cara. (VASUDEVA et al., 2016).

## 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com este breve estudo, conclui-se que a conservação do objeto de estudo da anatomia é pauta de grande importância para que o ensino possa perpassar entre os estudiosos da área.

Nota-se que grande parte dos autores analisados demonstraram que o formol, apesar de ser a substância mais utilizada, devido ao seu baixo custo, possui diversos malefícios que podem apresentar riscos à saúde. A glicerinação demonstrou ser uma prática eficiente, pois não apresenta efeito cancerígeno e não possui o odor forte, característico do formol. A plastinação mostrou-se também uma técnica promissora para os próximos anos, apesar do alto custo. Ademais, conclui-se a importância de se estudar e descobrir-se novas técnicas conservativas para que o cadáver seja objeto de estudo e auxilie o maior número possível de pessoas no entendimento da anatomia.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, E. G. R et al. **Contribution of academic tutoring for the teaching-learning process in Nursing undergraduate studies.** *Revista Brasileira de Enfermagem*, Brasília, v. 71, n. 4, p.1596-1603, 2018.

COOKSON, N. E.; AKA, J. J.; FINN, G. M. **An exploration of anatomists' views toward the use of body painting in anatomical and medical education: An international study.** *Anatomical Sciences Education*, United States, v. 11, n. 2, p.146-154, May 2017.

CUNHA JUNIOR, F. R. **Atividades de monitoria: uma possibilidade para o desenvolvimento da sala de aula.** *Educação e Pesquisa*, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 681-694, 2017.

CURY, F. S.; CENSONI, J. B.; AMBROSIO, C. E. **Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 5, p. 688-696, May 2013.

HASSELBLATT, F. et al. **Anonymous body or first patient? A status report and needs assessment regarding the personalization of donors in dissection courses in German, Austrian, and Swiss Medical Schools. Anatomical Sciences Education**, United States, v. 11, n. 3, p.282-293, Oct. 2017.

KARAM, R. G. et al. **Uso da glicerina para a substituição do formaldeído na conservação de peças anatômicas. Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 7, p. 671-675, jul. 2016.

KERBY, J.; SHUKUR, Z. N.; SHALHOUB, J. **The relationships between learning outcomes and methods of teaching anatomy as perceived by medical students. Clinical Anatomy**, New York, v. 24, n. 4, p. 489-497, Oct. 2010

MINAYO, M. C. S. **Análise qualitativa: teoria, passos e fidedignidade. Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.17, n.3, p. 621-626, mar. 2012.

PONTINHA, C. M; SOEIRO, C. **A dissecação como ferramenta pedagógica no ensino da Anatomia em Portugal. Interface**, Botucatu, v. 18, n. 48, p. 165-176, 2014

PRECHT, M. C.; BENNETT, C. C.; COPE, J. M. **Quantifying Cadaver Use in Physician Assistant Anatomy Education. The Journal of Physician Assistant Education**, United States, v. 28, n. 4, p.182-188, dez. 2017.

SILVA, G. R. et al. **Métodos de conservação de cadáveres humanos utilizados nas faculdades de medicina do Brasil. Rev. Med.**, São Paulo, v. 94, n. 4, p. 156-161, dez 2016

SMITH, C. F; MARTINEZ-ÁLVAREZ, C.; MCHANWELL, S. **“The Context of Learning Anatomy: Does It Make a Difference?” Journal of Anatomy**, v. 224, n. 3, p. 270–278, 2014.

VASUDEVA, N. et al. **Plastination: An innovative method of preservation of dead body for teaching and learning anatomy. MAMC Journal of Medical Sciences**, New Delhi, v. 2, n. 1, p.38-42, 2016.

VERONEZ, D. A. L. et al. **Potencial de risco para a saúde ocupacional de docentes, pesquisadores e técnicos de anatomia expostos ao formaldeído. Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente**, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 1–13, 2010

## ACUPUNTURA COMO TERAPIA PARA O ESTRESSE

### **Ricardo Morad Bassetto**

Laboratório de Biologia do Estresse (BEST), Departamento de Biociências, Instituto Saúde e Sociedade, Campus Baixada Santista, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Santos, SP. Médico Especialista em Clínica Médica e Acupuntura, Certificado - área de atuação em Dor (AMB- CMBA), Mestre em Ciências da Saúde. ricardobassetto@hotmail.com

### **Isabel Cristina Céspedes**

Disciplina de Genética, Departamento de Morfologia e Genética, Escola Paulista de Medicina (EPM), Campus São Paulo, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP. isabel.cespedes@unifesp.br

### **Regina Celia Spadari**

Laboratório de Biologia do Estresse (BEST), Departamento de Biociências, Instituto Saúde e Sociedade, Campus Baixada Santista, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Santos, SP. regina.spadari@unifesp.br

Nota: este trabalho é parte da Dissertação de Mestrado de Ricardo Morad Bassetto, sob orientação de Regina Celia Spadari e co-orientação de Isabel Cristina Céspedes.

**RESUMO:** A acupuntura representa um paradigma médico complexo e antigo, conhecido genericamente como “Medicina Tradicional Chinesa”. Dentre as diversas indicações terapêuticas da acupuntura, destacam-se o controle da dor e a redução do estresse, condição

que tem se tornado prevalente dado o estilo de vida atual. O estresse não é uma doença, mas pode desencadear e/ou agravar condições nosológicas para as quais haja predisposição individual, quando em duração e intensidade que excedam a capacidade de adaptação funcional psicobiológica. Entre as doenças psiquiátricas, os transtornos de ansiedade mantêm nexos fisiopatológicos com o estresse agudo intenso ou com o estresse crônico e, entre outros sistemas, o cardiovascular é suscetível às mudanças adaptativas desencadeadas tanto pela resposta de estresse como pelo estado ansioso. Esse artigo compreende uma revisão da literatura científica atualmente disponível sobre acupuntura e sua aplicação no tratamento do estresse. Relata dados de pesquisa em modelos experimentais que objetivam esclarecer os mecanismos pelos quais a acupuntura exerce seu efeito no tratamento de transtornos induzidos por estresse.

**PALAVRAS-CHAVE:** estresse, acupuntura, Nei Guan, PC6

### ACUPUNCTURE AS THERAPY FOR STRESS

**ABSTRACT:** Acupuncture is a complex and ancient medical paradigm, known as “Traditional Chinese Medicine”. Pain control and stress reduction are some of the acupuncture therapeutic indications. Nowadays, stress has

become a prevalent condition due to the modern life style. Stress is not a disease, but when its duration and intensity exceed the capacity of psychobiological functional adaptation stress may trigger and / or worsen nosological conditions for which there is individual predisposition,. Among psychiatric disorders, anxiety disorders maintain pathophysiological nexus with intense acute or chronic stress and, among other systems, the cardiovascular system is susceptible to adaptive changes triggered by both the stress response and the anxious state. This chapter is a review of the scientific literature on acupuncture and its application in stress therapy. Data obtained from research using animal models aimed to clarify acupuncture mechanisms of action in the therapy of stress induced disorders are reported.

**KEYWORDS:** stress, acupuncture, Nei Guan, PC6

## 1 | INTRODUÇÃO

A acupuntura representa um paradigma médico complexo e antigo, conhecido como “Medicina Tradicional Chinesa”, com origem há mais de três mil anos (Beijing, 1995). O primeiro registro, “Huang Di Nei Jing”, em forma de compêndio, data do século V a.C. e reúne fundamentos teóricos e indicações clínicas. Essa longa história produziu um conhecimento empírico descrito em linguagem filosófica, simbólica e analógica, influenciada pelo Taoísmo, o que colaborou, junto com o idioma chinês, para criar barreiras à compreensão ocidental. Desde os primeiros contatos, através dos jesuítas no século XVI, até sua difusão posterior pelos continentes europeu e americano esta se manteve mistificada e distante dos meios acadêmicos. Portanto, a acupuntura como objeto de interesse acadêmico para pesquisa é algo recente, das últimas quatro décadas, quando a neurociência permitiu pesquisar e desvendar mecanismos envolvidos no chamado “efeito acupuntura”.

Dentre as diversas indicações terapêuticas da acupuntura, destacam-se o controle da dor e a redução do estresse. Esse artigo compreende uma revisão da literatura científica atualmente disponível sobre acupuntura e sua aplicação no tratamento do estresse, um mal que aflige cerca de 80% da população mundial, desencadeado pelo estilo de vida e que é responsável pelo desencadeamento e/ou agravamento de muitas enfermidades prevalentes em nosso meio.

## 2 | ACUPUNTURA E ELETROACUPUNTURA (EEA)

A ação da acupuntura na modulação da dor foi o primeiro foco de atenção em estudos controlados (Melzack, 1978). Mas, Chiang e colaboradores (1973) já haviam sugerido que as mudanças fisiológicas iniciadas pela acupuntura, em primeira instância, dependem do sistema nervoso periférico. Mayer & Hayes (1975) definiram então o agulhamento como uma modalidade de analgesia produzida por estímulo que envolve várias vias, áreas e funções do sistema nervoso.

O uso de uma corrente de pulso percutânea, por meio de agulhas de acupuntura através dos tecidos, eletroacupuntura (EEA), decorreu da compreensão do sistema terapêutico acupuntural como um método de estímulo neuronal e de que a qualidade do estímulo modula a resposta biológica (Filshie & White, 2002a).

Considerar a acupuntura como uma forma de estímulo neural significa também aceitar os pontos acupunturais como os *loci* iniciais desse estímulo sensorial e que, portanto, estes apresentam especificidades anatômicas, fisiológicas e químicas. As mais relevantes são: a coincidência anatômica com pontos motores musculares e pontos gatilho (Melzack e col., 1981), a baixa resistência elétrica no local pela alta concentração de terminações nervosas livres, e um perfil neuroquímico característico (Ciszek e col., 1985; Kwok e col., 1998; Croley, 1991; Chan e col., 1998). O agulhamento dessas áreas promove modificações multifatoriais como, por exemplo, a geração de potenciais de ação que produzem alterações bioquímicas focais, as quais geram o estímulo que origina as mudanças biológicas relacionadas ao efeito da acupuntura.

### 3 | ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO

A resposta ao estímulo por acupuntura depende da integridade do sistema nervoso periférico no segmento do estímulo (Levy e Matsumoto, 1975; Toda e Ichioka, 1979), e também de estruturas suprasegmentares (Melzack, 1975; 1981). Começando na periferia, o estímulo subsequentemente ascende pela medula espinhal, passando pelo tálamo, até o córtex.

É provável que circuitos de *feedback* excitatórios e inibitórios também estejam envolvidos. Takeshigue e colaboradores (1991a; b; 1992a; b) apresentaram evidências, usando modelo animal, de uma via aferente, uma via eferente e vias associadas a vários neurotransmissores específicos em cada nível do neuroeixo.

Foram demonstrados efeitos da acupuntura sobre neurônios serotonérgicos e colinérgicos (Han e col., 1979; Jisheng, 1979; Cheng & Pomeranz, 1981). Aumento dos opióides endógenos (beta endorfina, encefalina, dinorfinas) foi observado na amígdala (Xu e col., 1985), no núcleo reticuloparagigantocelular (Zhou e col., 1993), na medula espinhal (Vacca-Galloway e col., 1985) e no plasma (Bossut e col., 1983) de animais submetidos à acupuntura.

Opióides endógenos, assim como seus receptores, estão presentes nos gânglios simpáticos e na medula suprarrenal (Mollereau & Mouledous, 2000; Pettersson e col., 2002; Bodnar 2013), de modo que o estímulo acupuntural potencialmente mobiliza não apenas centros mais altos do sistema de estresse e áreas correlatas (hipotálamo, amígdala, formação hipocampal, córtex pré-frontal, tronco encefálico), mas modula também aspectos neuroendócrinos, autonômicos e comportamentais da resposta de estresse (Lee e col., 2004; Park e col., 2005; Kim e col., 2009; Uchida e col., 2010; Eshkevari e col., 2012; Takahashi, 2013; Lu e col., 2013; Sapru, 2013; Wang e col.,

2014).

#### 4 | O PONTO PC6 – NEI GUAN

Dentre os inúmeros pontos de acupuntura, destacamos o PC6, Nei Guan, por sua versatilidade e inúmeras aplicações, entre as quais se encontram as doenças cardiovasculares, principal causa de morte atualmente.

Dividindo-se em seis partes iguais uma linha que se origina no centro da prega de flexão do punho e se estende até o centro da prega de flexão do cotovelo, o ponto PC6 localiza-se a distância de uma sexta parte da linha descrita, proximal a partir da prega de flexão do punho, entre os tendões dos músculos palmar longo e flexor radial do carpo. A agulha é inserida perpendicularmente a profundidade variável entre 0,3 a 1,5 cm, respeitando o nervo mediano e a membrana interóssea, entre os ossos rádio e ulna. Essas referências são aplicáveis tanto ao modelo humano quanto aos modelos animais, respeitadas as proporções descritas (Zhang e col., 2009; Lee e col., 2004; Yang e col., 2002; Kim e col., 2009).

Há uma variedade de indicações clínicas descritas para esse ponto: dor no braço, cotovelo e punho, hemiplegia, enxaqueca e vertigem; precordialgia; palpitação; dor no tórax; dor nos hipocôndrios; epigastralgia com sensação de distensão; vômitos; soluços; hiperêmese gravídica; insônia; déficit de memória; distúrbios do humor. Chama atenção uma gama tão grande de indicações relacionadas a condições orgânicas tão díspares (Liu, 2004). Para algumas delas há evidências clínicas comprovadas, sendo, sem dúvida, a ação antiemética a mais universalmente aceita (NIH, 1997). Entretanto, há um volume considerável de pesquisas desenvolvidas em modelos animais, a respeito dos mecanismos de ação relacionados aos efeitos antiarrítmicos e de cardioproteção, ansiolíticos, moduladores do humor e da resposta de estresse.

O pré-tratamento com EEA no PC6 em ratos submetidos à isquemia miocárdica e reperfusão, atenuou o escore de arritmia, a duração do segmento ST no eletrocardiograma, a área de infarto, a concentração de adrenorreceptores  $\beta_1$ , proteína Gs e AMPc dessa área (Gao e col., 2006a; b; 2007); aumentou a concentração de NO e de NOS e reduziu a concentração intracelular de  $Ca^{2+}$  (Wang e col., 2010), aumentou a degranulação de mastócitos exercendo, assim, um efeito cardioprotetor (Zhang e col., 2010).

Em cardiomiócitos isquêmicos de ratos tratados com EEA no Nei Guan-PC6 houve potencialização da atividade da ATPase de  $Na^+$  e  $K^+$  e aumento da expressão do mRNA da ATPase (Yan e col., 2007). Em músculo cardíaco de coelhos submetidos à isquemia miocárdica e reperfusão, EEA no PC6 reduziu dramaticamente o número de células apoptóticas e o conteúdo de malondialdeído (MDA), inibiu a expressão gênica de Bax, aumentou a expressão de Bcl-2 e a atividade da glutatona peroxidase

(GSH-PX), exercendo, assim, efeito cardioprotetor (Zhang e col., 2009). A implantação de agulha subcutânea de uso veterinário no Nei Guan (PC6), com permanência de sete dias, aumentou a concentração da proteína TGF $\beta$  3 e sua expressão gênica no miocárdio de ratos submetidos à isquemia (Yang e col., 2010).

Há evidências de que os mecanismos de ação do PC6 envolvendo o SNC têm repercussão na função cardíaca. EEA no PC6 de coelhos tem efeito inibitório sobre o núcleo arqueado do hipotálamo, após aumento das sístoles ventriculares induzidas por estimulação elétrica na linha média do hipotálamo (Zhong & Li, 2009, Zhou e col., 2009) O núcleo arqueado do hipotálamo, a substância cinzenta periaquedutal ventrolateral e o bulbo rostral ventrolateral foram apontados como sendo essenciais na atenuação da resposta reflexa de excitação simpática cardiovascular, com participação dos sistemas endocanabinóide e GABAérgico. A eletroestimulação nos pontos PC5-PC6 modula o reflexo de excitação visceral simpática, diminuindo a concentração de GABA na substância cinzenta periaquedutal ventrolateral. Essas ações são mediadas por receptores CB1 de endocanabinóides (Fu & Longhurst, 2009; Tjen-A-Looi e col., 2009). EEA nos pontos PC5-PC6, adicionalmente ao demonstrado nos estudos anteriores, também ativa os neurônios serotoninérgicos do núcleo da rafe, cujas projeções atingem os receptores serotoninérgicos 5-HT1A no bulbo ventrolateral rostral, colaborando com a atenuação dos reflexos simpato-excitatórios cardiovasculares (Moazzami e col., 2010).

## 5 | ESTRESSE

“Stress” é a resposta do organismo às ameaças a sua integridade (Selye, 1936). A resposta de estresse se inicia pela liberação de catecolaminas pelo sistema nervoso simpático e medula suprarrenal, e de glicocorticóides pelo córtex suprarrenal. Esses mediadores químicos atuam em receptores localizados nos tecidos de órgãos alvo onde a resposta ao estímulo estressor se traduz clinicamente. Estressores, sejam físicos ou psicológicos, geram respostas que variam de acordo com a sua natureza, intensidades e/ou duração, mas também de acordo com a maneira como cada organismo sente e interpreta o estímulo, associando-o a experiência prévia (Santos & Spadari-Bratfisch, 2006).

Assim, o estresse pode ser definido como uma condição de risco ou de percepção de risco a homeostase, estabelecido por possíveis forças adversas, intrínsecas ou extrínsecas, reais ou não (Chrousos & Gold, 1992; Habib e col., 2001). A reação de estresse ativa um repertório complexo de respostas adaptativas, fisiológicas ou comportamentais que, se inadequadas, excessivas e/ou prolongadas podem afetar o comportamento, bem como provocar consequências adversas às funções orgânicas como o crescimento, o metabolismo, a circulação, a reprodução e as respostas imunológica e inflamatória (Charmandari e col., 2005). Sendo assim, o estresse é

um fenômeno intrinsecamente dicotômico. Se por um lado desencadeia importantes funções de adaptação, por outro, se excessivo em intensidade ou duração, pode desencadear as chamadas doenças relacionadas ao estresse (Santos & Spadari-Bratfisch, 2006).

Com base na observação da variedade das ações centrais e periféricas das catecolaminas e glicocorticoides, foi proposto que o organismo disporia de um “Sistema de Estresse”, à semelhança dos demais sistemas orgânicos (Charmandari e col., 2005). O Sistema de Estresse inclui componentes centrais localizados, principalmente, no hipotálamo e no tronco encefálico, e componentes periféricos. Destacam-se os neurônios parvocelulares (que sintetizam e liberam o fator liberador de corticotrofina, CRF) e os neurônios do núcleo paraventricular (PVH) (que liberam arginina/vasopressina, AVP), ambos do hipotálamo. No bulbo estão localizados os neurônios CRFérgicos dos núcleos paragigantocelular e parabraquial e o *locus ceruleus* noradrenérgico (LC/NE). Os componentes periféricos do sistema de estresse incluem os integrantes periféricos do eixo HPA, o sistema eferente simpático e a medula suprarrenal (Charmandary e col., 2005).

O PVH é um microcosmo de integração neuroendócrina, autonômica e sensório motora, dadas suas divisões estruturais e funcionais que liberam no sistema porta-hipofisário neurohormônios e cujas projeções são direcionadas ao tronco encefálico e à medula espinal. Essas estruturas controlam a pressão arterial, a composição eletrolítica, o metabolismo energético, a temperatura, o apetite, o comportamento de defesa e a resposta de estresse. O CRF é o principal regulador hipotalâmico de sítios extra-hipotalâmicos no cérebro, incluindo partes do sistema límbico, amígdala, hipocampo, região frontal e o sistema simpático LC-NE (Charmandari e col, 2005; Horn & Swanson, 2013; Joëls & Baram, 2009).

A Área Hipotalâmica Lateral recebe uma vasta série de informações interoceptivas e exteroceptivas; exerce modulação cognitiva, motora esquelética, autonômica e endócrina, controla a ingestão alimentar e o estresse (Berthold & Münzberg, 2012). Exerce ação inibitória sobre a resposta taquicárdica desencadeada pelo estresse de restrição (Deolindo e col., 2013). Tem abundantes projeções eferentes para toda camada cortical, incluindo a formação hipocampal, amígdala, núcleos da base, tálamo, tronco encefálico e medula espinal, assim como para maior parte dos outros núcleos do hipotálamo (núcleo da área medial, núcleo arqueado, PVH, DMH, núcleo ventromedial e núcleo anterior).

O Núcleo Hipotalâmico Dorsomedial (DMH) desempenha papel crucial na modulação da resposta cardiovascular e da resposta vasomotora simpática a diferentes estressores por meio de neurônios da medula ventrolateral rostral (RVLM) e do núcleo pálido da rafe (RP) que aumentam a frequência cardíaca (FC), a pressão arterial (PA), a liberação de ACTH, a atividade locomotora e a atividade simpática (Fontes e col., 2011). O neuropeptídeo orexina (ORX), mobiliza uma resposta coordenada de pânico/defesa que envolve alterações cardiorrespiratórias,

endócrinas e de ansiedade (Johnson e col., 2012).

A amígdala é crítica no condicionamento do medo e também está relacionada com a consolidação da memória de experiências emocionais conscientes via mecanismos noradrenérgicos intrínsecos ativados na resposta de estresse (Rooszendaal e col., 2008). Os efeitos do estresse sobre a amígdala incluem distúrbios em aspectos afetivos e emocionais da cognição. Foram identificadas modificações celulares e moleculares relacionadas à neuroplasticidade amigdalóide induzidas por estresse, que devem estar na base de comportamentos depressivos e ansiosos (Lucassem e col., 2014). O hipocampo medeia os aspectos espaço-temporais do comportamento (Lucassem e col., 2014), é fundamental à memória explícita/ consciente relacionada à sequência de eventos de curto prazo (McEwen e col., 2013).

O córtex cerebral, integrado com a amígdala, PVH, hipotálamo lateral e núcleo parabraquial, envia projeções aos neurônios autonômicos pré-ganglionares. Estímulos nas áreas pré-límbica e infra-límbica do córtex cerebral pré-frontal produzem uma variedade de efeitos autonômicos, incluindo contração do estômago e mudanças na pressão arterial (Horn e Swanson, 2013), modulação negativa do eixo HPA e do sistema simpático adrenomedular (Brunoni e col., 2013). Essas áreas sensório-motora-viceais do córtex cerebral e da amígdala estão na base das respostas emocionais condicionadas. (LeDoux e Damasio, 2013).

O sistema límbico, composto por giro do cíngulo, córtex pré-frontal, giro parahipocampal, amígdala e hipocampo, está relacionado ao processamento emocional, sendo que as regiões corticais são responsáveis pela percepção/ consciência deste processo. Estruturas límbicas e projeções da amígdala podem modular a atenção, percepção, memória e decisão, enquanto projeções do CPF modulam estruturas amigdalinas. Essas correlações entre amígdala e CPF estão na base dos processos fisiológicos e fisiopatológicos de condições como ansiedade, medo, distúrbios do humor, tomada de decisão e funções cognitivas (McEwen e col., 2013). Há crescentes evidências de que alterações na morfologia neuronal do CPF induzidas por estresse, estão associadas com “deficits” nas funções executivas, como a memória de trabalho, mudanças no foco de atenção e flexibilidade cognitiva, assim como o desequilíbrio emocional na forma de uma debilidade na capacidade de extinção do medo condicionado (Holmes & Wellman, 2009).

O exposto acima demonstra que a resposta de estresse envolve inúmeras estruturas do sistema nervoso central e periférico, além de praticamente todos os órgãos periféricos, as emoções e o comportamento.

Os transtornos de ansiedade estão intimamente relacionados com a regulação anormal do medo e o estresse crônico tem ação crítica na sensibilização das vias amigdalinas relacionadas à resposta de medo e ao comportamento ansioso (Hyman & Cohen, 2013).

O circuito de medo está centrado na amígdala e medeia comportamentos de defesa e respostas ao perigo, recebendo *inputs* diretamente do sistema sensorial e

projetando neurônios para o neocórtex, núcleos da base, hipocampo e hipotálamo. O estímulo gerador de medo ativa a amígdala mesmo quando não é percebido conscientemente, ou seja, na ausência de processo cortical (Etkin e col., (2004; Ohman e col. ,(2007).

Nos circuitos envolvidos na relação estresse – medo – ansiedade, destaca-se o papel da substância cinzenta periaqueductal dorsal, CPF, córtex do giro do cíngulo, núcleo da rafe, septo e hipocampo, amígdala e hipotálamo medial (Brandão e col., 2004). Tais vias são sítios preferenciais de estudo das ações da EEA no ponto PC6, descrito como ansiolítico, antiarrítmico e protetor cardíaco.

Basseto e col. (2016) demonstraram que EEA aplicada ao ponto Nei Guan (PC6), descrito classicamente como ansiolítico e regulador cardiovascular, em ratos submetidos à imobilização (IMO) por 60 min em 3 dias consecutivos (IMO) reduziu a imunorreatividade à proteína *Fos* no CPF, AMIme, AMIce, nas áreas hipocampais CA1, CA2, CA3 e GD, PVH, DMH e no hipotálamo lateral, com redução de comportamentos indicadores de ansiedade. Os autores sugeriram que a eletroacupuntura pode ser utilizada como ferramenta terapêutica para atenuar os efeitos do estresse crônico reduzindo, assim, seu potencial patogênico.

## 6 | CONCLUSÃO

Estresse é uma condição prevalente na sociedade devido ao estilo de vida atual. Embora seu objetivo seja permitir a sobrevivência frente à adversidade, o estresse pode desencadear inúmeras doenças, quando crônico ou muito intenso. A acupuntura pode representar uma alternativa terapêutica para o tratamento do estresse uma vez que seus efeitos se estendem as inúmeras regiões do sistema nervoso central, inclusive aquelas ativadas durante a resposta de estresse.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, DG; STRICK, PL. IN: Principles of Neural Science / edited by Eric R. Kandel et al, 5th ed, Printed in United States of America: McGraw-Hill Companies, Inc. p. 337 – 355, 2013.

BASSETTO, RM; WSCIEKLICA, T.; POUZA, KCP; ORTOLANI, D; VIANA, MB; CESPEDES, IC; SPADARI, RC. Effects of electroacupuncture on stress and anxiety-related responses in rats. **Ann Bras Acad Sci**, v. 89, n. 2, p. 1003-1012, 2017.

BEIJING. State Administration of Traditional Chinese Medicine.:Advanced Textbook on Traditional Chinese Medicine and Pharmacology. (1): 21-30. 1995.

BERTHOUD HR, MÜNZBERG H, RICHARDS BK, MORRINSON CD. Neural and metabolic regulation of macronutrient intake and selection. **Proc Nutr Soc**. 71(3):390-400. 2012.

BODNAR RJ. Endogenous opiates and behaviour: 2012. **Peptides**. 50:55-95. 2013.

BOSSUT DF, LESHIN LS, STROMBERG MW, MALVEN PV. Plasma cortisol and beta-endorphin in

- horses subjected to electro-acupuncture for cutaneous analgesia. **Peptides**. 4(4): 501 – 7. 1983.
- BRANDÃO ML, VIANNA DM, MASSON S, SANTOS J. Neural organization of different types of fear: implications for the understanding of anxiety. **Rev Bras Psiquiatr**. 2:36-41. 2004.
- BRUNONI AR, VANDERHASSELT MA, BOGGIO PS, FREGNI F, DANTAS EM, MILL JG, LOTUFO PA, BENSEÑOR IM. Polarity- and valence-dependent effects of prefrontal transcranial direct current stimulation on heart rate variability and salivary cortisol. **Psychoneuroendocrinology**. 38 (1): 56-66. 2013.
- CHAN W, WEISSENTEINER H, RAUSH WD, CHEN KY, WU LS LIN JH. Comparison of substance P concentration in acupuncture points in different tissues in dogs. **Am J Chin Med**. 26:13. 1998.
- CHARMANDARI E, TSIGOS C, CHROUSOS G. Endocrinology of the stress response. **Annu Rev Physiol**. 67: 259 – 84. 2005.
- CHENG RS, POMERANZ BH. Electroacupuncture analgesia is mediated by stereospecific opiate receptor and reversed by antagonists of type 1 receptor. **Life Sci**. 26(8): 631 – 8. 1980.
- CHENG RS, POMERANZ B. Monoaminergic mechanisms of electroacupuncture analgesia. **Brain Res**. 215(1-2): 77 – 92. 1981.
- CHIANG CY, CHANG CT, CHU HL, YANG LF. Peripheral afferent pathway for acupunctural analgesia. **Scientia Sinica**. 16:210-217. 1973.
- CISZEK M, SZOPINSKI J, SKRZYPULEC V. Investigations of morphological structure of acupuncture points and meridians. **J Tradit Chin Med**. 5(4): 289-92. 1985
- CROLEY TE. Histology of the acupuncture point. **Am J Acupuncture**. 19(3): 247-253. 1991.
- CHROUSOS GP, GOLD PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. **Jama**. 267(9): 1244 – 52. 1992.
- DEOLINDO MV, REIS DG, CRESTANI CC, TAVARES RF, RESSTEL LB, CORRÊA FM. NMDA receptors in the lateral hypothalamus have a inhibitory influence on the tachycardia response to acute restraint stress in rats. **Eur J Neurosci**. 38(3):2374-81. 2013.
- ESHKEVARI L, EGAN R, PHILLIPS D, TILAN J, CARNEY E, AZZAM N, AMRI H, MULRONEY SE. Acupuncture at ST36 prevents Chronic stress-induced increases in neuropeptide Y in rat. **Exp Biol Med**. 237(1):18-23. 2012.
- ETKIN A, KLEMENHAGEN KC, DUDMAN JT, ROGAN MT, HEN R, KANDEL ER, HIRSCH J. Individual differences in trait anxiety predict the response of the basolateral amygdala to unconsciously processed fearful faces. **Neuron**. 44 (6):1043-55. 2004.
- FILSHIE J, WHITE A. Acupuntura Médica: Um enfoque científico do ponto de vista ocidental. São Paulo: Roca. 185-214. 2002.
- FONTES MA, XAVIER CH, DE MENEZES RC, DIMICCO JA. The dorsomedial hypothalamus and the central pathways involved in the cardiovascular response to emotional stress. **Neuroscience**. 184:64-74.2011.
- GAO JH, FU WX, JIN ZG, YU XC. Anti-arrhythmic effect of acupuncture pretreatment in the rat of myocardial ischemia the post-receptor signaling pathway of beta-adrenergic receptor. **Zhongguo Zhen Jiu**. 26(6): 431-5. 2006a.

- GAO J, FU W, JIN Z, YU X. A preliminary study on the cardioprotection of acupuncture pretreatment in rats with ischemia and reperfusion: involvement of cardiac beta- adrenoceptors. **J Physiol Sci.** 56(4): 275 – 9. 2006b.
- GAO J, FU W, JIN Z, YU X. Acupuncture pretreatment protects heart from injury in rats with myocardial ischemia and reperfusion via inhibition of the beta(1)-adrenoceptor signaling pathway. **Life Sci.** 80(16): 1484 – 9. 2007.
- HABIB KE, GOLD PW, CHROUSOS GP. Neuroendocrinology of stress. **Endocrinol Metab Clin North Am.** 30 (3): 695 – 728. 2001.
- HAN CS, CHOU PH, LU CC, LU LH, YANQ TH, JEN MF. The role of central 5-hydroxytryptamine in acupuncture analgesia. **Sci Sin.** 22 (1): 91 – 104. 1979.
- HOLMES A, WELLMAN CL. Stress-induced prefrontal reorganization and executive dysfunction in rodents. **Neurosc Biobehav.** 33 (6): 773-83.2009.
- HORIUCHI J, McDOWALL LM, DAMPNEY RA. Differential control of cardiac and sympathetic vasomotor activity from the dorsomedial hypothalamus. **Clin Exp Pharmacol Physiol.** 33 (12): 1265-8. 2006.
- HORN JP, SWANSON LW. IN: Principles of Neural Science / edited by Eric R. Kandel et al. – 5th ed. – Printed in United States of America: McGraw-Hill Companies, Inc. 1056 – 1078. 2013.
- HYMAN SE, COHEN JD. IN: Principles of Neural Science / edited by Eric R. Kandel et al. – 5th ed– Printed in United States of America: McGraw-Hill Companies, Inc. 1402 – 1424.2013.
- JISHENG H. The role of some central neurotransmitters in acupuncture and moxibustion and acupuncture anaesthesia. National Symposium of Acupuncture and moxibustion and Acupuncture Anaesthesia. Beijing. 27 – 30. 1979. IN: LEWITH GT, KENYON JN. Physiological and psychological explanations for the mechanisms of acupuncture treatment for chronic pain. **Soc Sci Med.** 19 (12): 1367 – 1378. 1984.
- JOËLS M, BARAM TZ. The neuro-symphony of stress. **Nature Rev..** 10: 459 – 465. 2009.
- JOHNSON PL, MOLOSH A, FITZ SD, TRUITT WA, SHEKHAR A. Orexin, stress, and anxiety/panic states. **Prog Brain Res.** 198: 133-161. 2012.
- KIM H, PARK HJ, HAM SM, HAHM DH, LEE HJ, KIM KS, SHIM I. The effects of acupuncture stimulation at PC6 (Neiguan) on chronic mild stress-induced biochemical and behavioral responses. **Neurosci Lett.** 460 (1): 56 – 60. 2009.
- KWOK G, COHEN M, COSIC I. Mapping acupuncture points using multichannel device. **Australas Phys Eng Sci Med.** (2): 68-72. 1998.
- LeDOUX JE, DAMASIO AR. IN: Principles of Neural Science / edited by Eric R. Kandel et al – 5th ed– Printed in United States of America: McGraw-Hill Companies, Inc. 1079-1094.2013
- LEE HJ, LEE B, CHOI SH, HAHM DH, KIM MR, ROH PU, PYUN KH, GOLDEN G, YANQ CH, SHIM I. Electroacupuncture reduces stress-induced expression of c-fos in the brain of the rat. **Am J Chin Med.** 32 (5): 795 – 806. 2004.
- LEVY B, MATSUMOTO T. Pathophysiology of acupuncture: Nervous system transmission. **Am Surg.** 41 (6): 378-84. 1975.
- LIU G. Tratado Contemporâneo de Acupuntura e Moxibustão: Pontos e Meridianos. São Paulo: Roca.

131 - 149. 2004.

LU J, LIANG J, WANG JR, HU L, TU Y, GUO JY. Acupuncture Activates ERK-CREB Pathway in rats Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress. **Evid Based Complement Alternat Med**. 2013; 469765.2013.

LUCASSEN PJ, PRUESSNER J, SOUSA N, ALMEIDA OFX, VAN DAM AM, RAJKOWSKA G, SWAAB F, CZÉH B. Neuropathology of stress. **Acta Neuropathol**. 127: 109-135. 2014.

McEWEN BS, MORRINSON JH. The brain on stress: vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course. **Neuron**. 79 (1): 16-29. 2013.

MAGALHÃES AC, HOLMES KD, DALE LB, COMPS-AGRAR L, LEE D, YADAV PN, DRYSDALE L, POULTER MO, ROTH BL, PIN JP, ANISMAN H, FERGUNSON SS. CRF receptor 1 regulates anxiety behavior via sensitization of 5-HT2 receptor signaling. **Nature Neurosci**. 13 (5): 622-629. 2010.

MAYER DJ, HAYES RL. Stimulation-produced analgesia: development of tolerance and cross-tolerance to morphine. **Science**. 188 (4191): 941-943. 1975

MELZACK R. Prolonged relief of pain by brief intense transcutaneous somatic stimulation. **Pain**. 1(4): 357-373. 1975

MELZACK R. Acupuncture and Muscleskeletal Pain. **J Rheumatol**. 5 (2): 119-120. 1978.

MELZACK R. Myofascial Trigger Points: Relation to acupuncture and mechanisms of pain. **Arch Phys Med Rehabil**. 62 (3): 114-117. 1981

MOLLEREAU C, MOULEDOUS L. Tissue distribution of the opioid receptor-like (ORL1) receptor. **Peptides**. 21 (7): 907-917. 2000.

NIH Consensus Development Conference on Acupuncture. National Institute of Health. Bethesda, Maryland. NIH Consensus Statement. 15 (5): 91. 1997.

OHMAN A, CARISSON K, LUNDQVIST D, INGVAR M. On the unconscious subcortical origin of human fear. **Physiol Behav**. 92 (1-2): 180-185. 2007.

PARK HJ, CHAE Y, JANG J, SHIM I, LEE H, LIM S. The effect of acupuncture on anxiety and neuropeptide Y expression in the basolateral amygdala of maternally separated rats. **Neurosci Lett**. 377 (3): 179-184. 2005.

PARK HJ, LIM S, LEE HS, LEE HJ, YOO YM, LEE HJ, YOO YM, LEE HJ, KIM SA, YIN CS, CEO JC, CHUNG JH. Acupuncture enhances cell proliferation in dentate gyrus of maternally-separated rats. **Neurosci Lett**. 319 (3): 153-6. 2002.

PETTERSSON LM, SUNDLER F, DANIELSEN N. Expression of orphanin FQ/nociceptin and its receptor in rat peripheral ganglia and spinal cord. **Brain Res**. 945 (2): 266-275. 2002.

POMERAZ B, CHIU D. Naloxone blockade acupuncture analgesia: endorphin implicated. **Life Sci**. 19 (11): 1757 – 1762. 1976.

ROOZENDAAL B, BARSEGYAN A, LEE S. Adrenal stress hormones, amygdale activation, and memory for emotionally arousing experiences. **Prog Brain Res**. 167:79-97. 2008.

SANTOS IN, SPADARI-BRATFISCH RC. Stress and cardiac beta adrenoceptors. **Stress**. 9 (2): 69 – 84. 2006.

- SAPRU HN. Role of the hypothalamic arcuate nucleus in cardiovascular regulation. **Auton Neurosci.** 175 (1-2): 38-50. 2013.
- SELYE H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature.** 138: 32. 1936.
- TAKAHASHI T. Effect and mechanism of acupuncture on gastrointestinal diseases. **Int Rev Neurobiol.** 111: 273-94. 2013
- TAKESHIGE C, TSUCHIYA M, GUO S, SATO T. Dopaminergic transmission in the hypothalamic arcuate nucleus to produce acupuncture analgesia in correlation with the pituitary gland. **Brain Res Bull.** 26 (1): 133-122. 1991a.
- TAKESHIGE C, TSUCHIYA M, ZHAO WH, GUO S. Analgesia produced by pituitary ACTH and dopaminergic transmission in the arcuate. **Brain Res Bull.** 26 (5): 779-88. 1991b.
- TAKESHIGE C, NAKAMURA A, ASAMOTO S, ARAI T. Positive feedback action of pituitary B-endorphin on acupuncture analgesia afferent pathway. **Brain Res Bull.** 29 (1): 37-44. 1992a.
- TAKESHIGE C, SATO T, MERA T, HISAMITSU T, FANG J. Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia.. **Brain Res Bull.** 29 (5): 617-634. 1992b.
- TJEN-A-LOOI SC, LI P, LONGHURST JC. Processing cardiovascular information in the vIPAG during electroacupuncture in rats: roles of endocannabinoids and GABA. **J Appl Physiol.** 106 (6): 1793 – 1799. 2009.
- TODDA K, ICHIOKA M. Afferent nerve information underlying the effects of electroacupuncture in rat. **Exp Neurol.** 65: 457-461. 1979.
- TU W, COOK A, SCHOLL JL, MEARS M, WATT MJ, RENNER KJ, FOSTER GL. Serotonin in the ventral hippocampus modulates anxiety-like behavior during amphetamine withdrawal. **Neuroscience.** 281C: 35-43. 2014.
- UCHIDA S, KAGITANI F, HOTTA H. Neural mechanisms of reflex inhibition of heart rate elicited by acupuncture-like stimulation in anesthetized rats. **Auton Neurosc: Basic and Clinical.** 157. 18-23. 2010.
- VACCA-GALLOWAY LL, NAFTCHI NE, ARAKAWA K, GUAN XM, AI MK. Alterations of immunoreactive substance P and enkephalin in rat spinal Cord after electroacupuncture. **Peptides.** 6 suppl 1: 177 – 188. 1985.
- WANG C, TIAN YF, ZHOU D, YANG XF, LIN YP, CHANG XR, YAN J. Influence of electroacupuncture on myocardial NO and NOS and intracellular Ca<sup>2+</sup> contents in myocardial ischemia-reperfusion injury rats. **Zhen Ci Yan Jiu.** 35 (2): 113 – 117. 2010.
- WANG SJ, ZHANG JJ, QIE LL. Acupuncture relieves the excessive excitation of hypothalamic-pituitary-adrenal cortex axis function and correlates with the regulatory mechanism of GR, CRH, and ACTHR. **Evid Based Complement Alternat Med.** 2014; 2014: 495379.
- WILLIAMS LM, LIDDELL BJ, KEMP AH, BRYANT RA, MEARES RA, PEDUTO AS, GORDON E. Amygdala-prefrontal dissociation of subliminal and supraliminal fear. **Hum Brain Mapp.** 27 (8): 652-661. 2006.
- XU DY, ZHOU ZF, HAN JS. Amygdaloidal serotonin and endogenous opioid substances (OLS) are important for mediating electroacupuncture analgesia and morphine analgesia in the rabbit. **Sheng Li XueBao.** 37 (2): 162 – 171. 1985.

YAN J, YANG XF, YI SX, CHANG XR, LIN YP, WANG C, DIAO LH. Effect of electroacupuncture of “Neiguan” (PC6) on Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> - ATPase activity and its gene expression in cardiocyte membrane in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury. **Zhen Ci Yan Jiu**. 32 (5): 296 – 300. 2007.

YANG CH, LEE BB, JUNG HS, SHIM I, ROH PU, GOLDEN GT. Effect of electroacupuncture on response to immobilization stress. **Pharmacol Biochem Behav**. 72(4): 847 – 855. 2002.

YANG XF, CUI J, LIU XY, ZHANG XS, FENG L, WANG XG, QIAN N. Effect of needle- implantation at “neiguan” (PC6) on the expression of myocardial TGF-beta3 and its mRNA in the Chinese mini swine with myocardial ischemia injury. **Zhen Ci Yan Jiu**. 35(4): 267 –2 71. 2010.

ZHANG H, LIU L, HUANG G, ZHOU L, WU W, ZHANG T, HUANG H. Protective effect of electroacupuncture at the neiguan point in a rabbit model of myocardial ischemia-reperfusion injury. **Can J Cardiol**. 25 (6): 359 – 363. 2009.

ZHANG JL, CHEN J, WANG XR, LI WW, WANG BL, ZHOU J. Protective effect of “neiguan” (PC6) – electroacupuncture preconditioning on myocardium in myocardial ischemia/reperfusion rats. **Zhen Ci Yan Jiu**. 35 (3): 182 –18 7. 2010.

ZHONG H, LI GZ. Study of mechanism of electroacupuncture of “Neiguan” (PC6) in inhibiting ventricular arrhythmia induced by hypothalamic electro stimulation in the rabbit. **Zhen Ci Yan Jiu**. 34 (1): 43 – 47. 2009.

ZHOU L, JIANG JW, WU GC, CAO XD. Changes of endogenous opioid peptides content in RPGL during acupuncture analgesia. **Sheng Li Xue Bao**. 45 (1): 36 – 43. 1993.

ZHOU W, MAHAJAN A, LONGHURST JC. Spinal nociceptin mediates electroacupuncture-related modulation of sympathoexcitatory reflex responses in rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. 297 (2): 859 – 865. 2009.

## ATENÇÃO FARMACÊUTICA AOS PACIENTES COM GLAUCOMA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

### **Jeane Cristina Viotti Hidalgo**

Universidade Paulista, Instituto de Ciências da Saúde

São Jose dos Campos – São Paulo

### **Simone Aparecida Biazzi de Lapena**

Universidade Paulista, Instituto de Ciências da Saúde

São Jose dos Campos – São Paulo

### **Fernanda Malagutti Tomé**

Universidade Paulista, Instituto de Ciências da Saúde

São Jose dos Campos – São Paulo

**RESUMO:** Existem cerca de 148.000 pessoas cegas no Brasil. A principal causa de cegueira é a catarata, a segunda causa é o glaucoma. Glaucoma é uma doença que lesiona o nervo óptico devido ao aumento da pressão intraocular. O tratamento é feito com agente farmacológico ou cirúrgico. A adesão e eficácia do tratamento estão relacionados com as informações prestadas aos pacientes que, muitas vezes isso não acontece nos consultórios médicos. Estudos demonstram que 80% dos pacientes usam a técnica incorreta, por essa razão é essencial a atenção farmacêutica, prestar assistência ao paciente orientando sobre os cuidados com a saúde, riscos e consequências, e técnica correta de instilação do colírio, com vídeos demonstrativos e folhetos instrucionais,

causando um impacto positivo no tratamento. Uma maneira simples e de baixo custo para aumentar a adesão ao tratamento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Glaucoma, Atenção farmacêutica, Idoso.

### PHARMACEUTICAL CARE FOR PATIENTS WITH GLAUCOMA: A LITERATURE REVIEW

**ABSTRACT:** There are about 148,000 blind people in Brazil. The main cause of blindness is cataract, the second cause is glaucoma. Glaucoma is a disease that damages the optic nerve due to increased intraocular pressure. The treatment is done with pharmacological or surgical agent. Adherence and efficacy of treatment are related to the information provided to patients, which often does not happen in doctors' offices. Studies show that 80% of patients use the wrong technique, therefore pharmaceutical care is essential, providing patient care with guidance on healthcare, risks and consequences, and correct eye wash instillation technique with demonstrative video and leaflets with a positive impact on treatment. A simple and inexpensive way to increase adherence to treatment.

**KEYWORDS:** Glaucoma, Pharmaceutical care, Aged.

## 1 | INTRODUÇÃO

Glaucoma é uma doença que lesiona o nervo óptico levando à perda irreversível da visão (GUPTA *et al*, 2016). A pressão intraocular (PIO) é regulada pelo humor aquoso. Lesões congênitas ou adquiridas que obstruem mecanicamente o efluxo do humor aquoso fazem decorrer o glaucoma. Existem fármacos para o tratamento prolongado do glaucoma, quando um agente farmacológico não reduz a PIO deve ser usado um de classe diferente ou uma segunda medicação pode ser adicionada como terapia adjunta (PORTH e MATFIN, 2010).

Uma boa relação médico-paciente é muito importante, pois a maior causa de fracasso no tratamento não está na ineficácia das drogas e, sim, na baixa fidelidade ao tratamento clínico, pois tem o desconhecimento da doença e suas consequências, e também formas inadequadas de uso de medicação. As informações necessárias sobre os riscos da doença, consequências, objetivo do tratamento e regras básicas para o uso de medicação, cabe ao médico informar, mas é fundamental que o paciente tenha uma orientação sobre a instilação correta da medicação e essa atribuição se dá ao farmacêutico (BETINJANE *et al*, 2005).

A Assistência Farmacêutica está definida no Art.1º, inciso IV da Resolução n.º 338, do Conselho Nacional de Saúde, de 06 de maio de 2004. Ações de assistência farmacêuticas referentes à atenção farmacêutica compreende prevenção, promoção e recuperação da saúde, de forma integrada à equipe de saúde. A interação do farmacêutico com o usuário visa uma farmacoterapia racional, obter resultados definidos, voltados a melhorar a qualidade de vida respeitando suas especificidades biopsicossociais.

É uma troca de informações entre o paciente e o farmacêutico, que orienta sobre os cuidados em saúde e uso de seus medicamentos, traz grandes benefícios aos pacientes e proporciona reconhecimento ao farmacêutico, além de fortalecer o relacionamento entre o profissional da saúde e o paciente, podendo aumentar a adesão ao tratamento. No aconselhamento o farmacêutico pode orientar sobre o uso correto dos medicamentos prescritos para melhorar os efeitos terapêuticos, reduzir o aparecimento de efeitos adversos e toxicidade, informar sobre os cuidados com a saúde e higiene, a fim de prevenir complicações e doenças e melhorar seu estado geral. Podendo ser feito com paciente individual, com base na sua receita médica, ou em grupos de portadores de doenças específicas, isso cria condições para que se estabeleça uma interação satisfatória, onde não há somente troca de informações, mas também seja um espaço para os pacientes tirarem suas dúvidas, discutirem suas dificuldades e necessidades (SILVA, NAVES e VIDAL, 2008).

Sobre a técnica de instilação, até 80% dos pacientes que fazem uso de colírios realizam a técnica incorreta quando se auto administram medicação ocular por falta de instrução formal. A técnica errada pode favorecer para o desperdício de medicamentos, desfecho desfavorável, aumento de custo, diminuição da eficácia

terapêutica e menor satisfação do paciente. Feng *et al*, (2016), fizeram um estudo com objetivo de avaliar a utilidade e o impacto da educação dos pacientes sobre a técnica correta de auto administração de colírios, com vídeo instrucional, folheto educacional ilustrado e pré e pós-pesquisa de ensino, como resultado após o ensino, 91% dos pacientes se sentiram mais confiantes em administrar os colírios, demonstrando melhora significativa imediata após o ensino.

## 2 | REVISÃO DA LITERATURA

Estima-se que a segunda maior causa mundial de cegueira seja o glaucoma. O glaucoma causa danos progressivos e irreversíveis ao nervo óptico, resultando gravemente a perda de visão. É mais comum em idosos e sua prevalência continuará crescendo em todo o mundo à medida que a expectativa de vida aumente (MIGUEL *et al*, 2015; DE MORAES *et al*, 2016).

Alguns fatores estão associados com o risco em aumentar o desenvolvimento de glaucoma, são eles: pressão intra-ocular elevada (PIO), aumento da idade, histórico familiar, funda racial africano ou asiático, miopia e espessura corneana central mais fina. Os três principais tratamentos para reduzir a PIO são: terapia medicamentosa, terapia com laser e cirurgia incisional (XU *et al*, 2017).

O mecanismo de ação dos medicamentos na redução da PIO fundamenta-se em reduzir a produção de humor aquoso ou o aumento da taxa de fluxo do humor aquoso dentro do olho. (Análogos de prostaglandinas, betabloqueadores, agonistas adrenérgicos seletivos alfa<sub>2</sub>, agonista colinérgicos e inibidores da anidríase carbônica). Habitualmente começa com medicamentos, para um nível mais alto podem ser usados como tratamento suplementar com laser ou cirurgia, quando esses dois não for bem-sucedido em atingir a PIO alvo no pós-operatório (XU *et al*, 2017).

A não adesão ao tratamento está associada ao avanço dos danos causados nas células ganglionares da retina, levando a perda de visão. É valioso que o médico oftalmologista verifique a técnica de instilação dos colírios, orientando-os em relação ao manuseio correto da medicação (MC VEIGH *et al*, 2015; MIGUEL *et al*, 2015).

Segundo Feng, foram realizados estudos anteriormente e demonstraram que até 80% dos pacientes usavam a técnica incorreta. Alguns pacientes consomem grandes quantidades de colírios, tentando colocar a medicação em seus olhos. Não há como saber a dosagem correta que foi utilizada, isso dificulta para os médicos determinarem se os medicamentos prescritos não estão fazendo efeito ou se a gota não está caindo no olho, isso pode impactar nas escolhas terapêuticas (EATON *et al*, 2015).

Dificuldades com a auto instilação de colírios é um problema significativo para o paciente, se o paciente sempre falhar em instilar com sucesso seus colírios maior

o risco de progressão da doença (TATHAM *et al*, 2013).

A educação dos pacientes é um elemento primordial para garantir que eles usem seus colírios de forma eficaz e entender o porquê aquela medicação foi prescrita (MC VEIGH *et al*, 2015). Explicação adequada e demonstração de como os colírios devem ser usados muitas vezes são negligenciados (TATHAM *et al*, 2013). Isso devido ao tempo limitado que os pacientes têm com seus oftalmologistas (SAYNER *et al*, 2016).

Estudo feito por Tatham, verificou que sessenta e nove dos 85 (81,2%) não conseguiam lembrar de alguma vez ser mostrado como instilar o colírio, apenas quatorze dos 85 (16,5%) lembram de ter sido mostrado como usar os colírios pelo oftalmologista.

Outro estudo feito por Eaton, realizado por um dispositivo portátil, reutilizável e barato, o Eye Drop Applicator Monitor (EDAM), figura 1, que permite monitorar diretamente a adesão do paciente e até fornecer informações sobre como melhorar a técnica de instilação. O EDAM usa um sistema de monitoramento de vídeo, que registra o tempo de aplicação, e também o tempo real da administração em si, essas informações podem ser transferidas para um computador permitindo que médicos e paciente analise o que está sendo feito de errado, e posteriormente, recomendações específicas sobre como corrigir e melhorar ou alterar o regime terapêutico possa ser feito por médico, enfermeiro ou assistente. Nesse estudo ficou nítido que poucos pacientes são capazes de instilar colírios de forma adequada e consistente, apenas 1 dos 25 na fase clinica foi capaz de instilar adequadamente 20 gotas e fazer com que todas pousassem no olho sem tocar nos cílios, nas pálpebras ou nos anexos com o conta gotas.

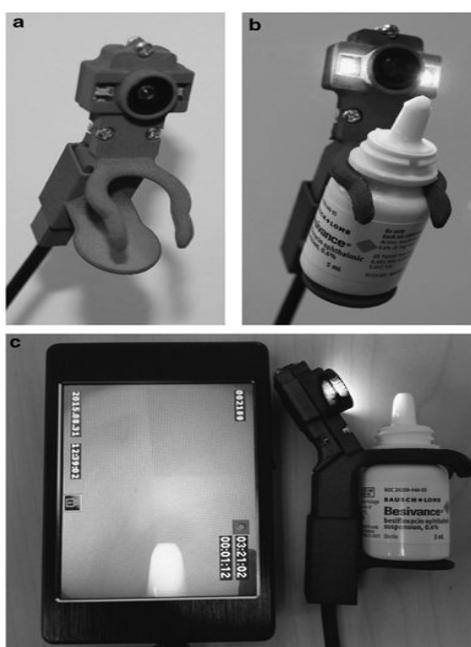


Figura 1 - Dispositivo portátil Eye Drop Applicator Monitor (EDAM)

AJ Tatham *et al*, 2013.

É questionável que a educação dos pacientes sobre a administração de colírios pode ser uma maneira coerente e econômica de aumentar a adesão e o sucesso clínico (FENG *et al*, 2016).

Pacientes com glaucoma devem ser instruídos uma boa técnica de instilação de colírios desde a primeira vez que fossem prescritos (TATHAM *et al*, 2013). De acordo com Zimermman a técnica ideal é a criação de um bolsão na pálpebra inferior, puxando para longe do olho e aplicando uma gota no bolso criado, após administrar a gota o olho deve ser fechado ou aplicar uma pressão nos ductos lacrimais com o dedo por 1 a 2 minutos, isso aumenta o tempo de contato com a medicação, é necessário um tempo de 5 minutos entre uma instilação e outra nos olhos.

Existe uma ocasião para os farmacêuticos terem um impacto positivo no tratamento dos pacientes de glaucoma, já que raramente recebem instruções contínuas sobre a administração de colírios de seus oftalmologistas e acham difícil se auto administrar. Os farmacêuticos podem demonstrar e avaliar a técnica correta de instilação de colírios, se o tempo nas consultas é limitado, os farmacêuticos podem fornecer uma hiperligação de como administrar corretamente os colírios (SAYNER *et al*, 2016).

Estudo feito por Feng *et al*, 2016, teve como objetivo medir os efeitos diretos que os materiais educativos tiveram sobre a técnica de autoadministração de pacientes com colírios, conforme figura 2. Pacientes relataram que se sentiram mais confiantes depois do ensino com os materiais educativos. Foram usados vídeo instrucional e um folheto educacional ilustrado, independente se tiveram educação anterior ou confiança a maioria dos pacientes relataram que os materiais ajudaram a administrar corretamente os colírios.

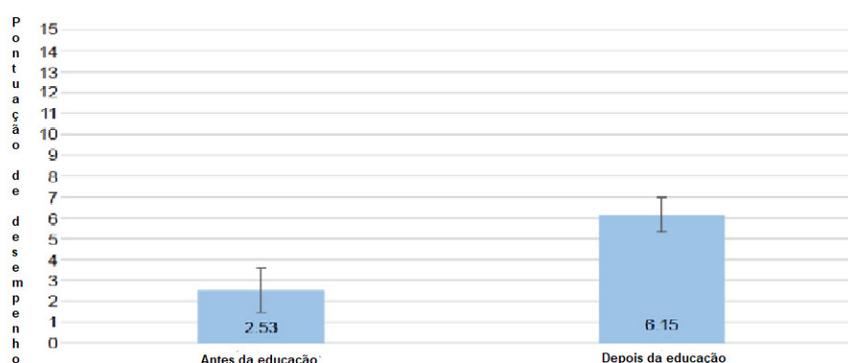


Figura 2 – Pontuação de desempenho de autoadministração de colírios antes e depois da exposição as ferramentas educacionais.

Fenget al., 2016.

O reforço da técnica correta deve ocorrer periodicamente, em visitas, para ajudar a motivar o paciente a aderirem ao regime de medicação (TATHAM *et al*, 2013), seria

útil desenvolver protocolos com técnicos em vídeos (MIGUEL *et al*, 2015), vídeos demonstrativos e folhetos instrucionais ilustrativos, ferramentas de baixo custo e que iram promover aos pacientes compreensão, conformidade e satisfação (FENG *et al*, 2016).

### 3 | DISCUSSÃO E RESULTADOS OBTIDOS

De acordo com as pesquisas realizadas nos treze artigos científicos, o glaucoma é mais comum em idosos e sua prevalência continuará aumentando conforme a expectativa de vida aumenta.

Segundo Tatham *et al*, 2013, em seu estudo 81,2% dos pacientes não conseguiam lembrar se alguma vez foi mostrado como administrar os colírios, apenas 16,5% lembram de ter sido orientados por um oftalmologista.

No estudo de Sayner *et al*, 2016, apenas 5% foram capazes de incutir uma única gota no olho, 90% conseguiram com que a gota caísse na primeira tentativa e 40% tocaram com o conta gotas nos olhos ou face. Descobriu-se que raramente os médicos instruíam os pacientes sobre como instilar os colírios, devido ao tempo limitado das consultas e que existe uma oportunidade para os farmacêuticos terem um impacto positivo no tratamento dos pacientes com glaucoma, podendo avaliar, de demonstrar a técnica correta de instilação segundo Zimmerman.

Eaton *et al*. 2015, testaram um dispositivo chamado de Eye Drop Application Monitor (EDAM), portátil, reutilizável e barato. É um sistema de monitoramento que registra o tempo de aplicação, podendo ver quando e quanto cai de medicamento no olho durante a autoadministração. Permitindo que se analise o que está fazendo de errado através de dados transferidos para o computador, podendo ser usado em ambiente ambulatorial.

Feng *et al*, 2016, a educação do paciente sobre a instilação de colírios pode ser uma maneira simples e econômica para aumentar a adesão ao tratamento, sugerindo que médicos devam considerar a inserção de ferramentas formais como vídeos demonstrativos e folhetos instrucionais.

Os resultados do estudo de MC Veigh and Vakros, 2015, destacaram a questão da adesão dos pacientes com glaucoma, sendo o primeiro estudo oftalmológico que buscou melhorar a adesão e educar os pacientes simultaneamente.

Por fim, Miguel AIM *et al*, 2015, ressalta que é importante que os oftalmologistas verifiquem a técnica correta de instilação dos colírios, afim de orienta-los. Sugerindo que os pacientes devam ser supervisionados ou um acompanhante possa instilar o colírio afim de aumentar a chance de adesão. Sendo útil também desenvolver protocolos com vídeos e folhetos ilustrativos.

## 4 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que muitos pacientes não tem uma boa adesão ao tratamento de glaucoma. Muitos não foram orientados corretamente na consulta com seus oftalmologistas, consultas rápidas, pouca destreza. Pesquisas mostraram resultados favoráveis após educação dos pacientes com vídeos instrucional, folhetos educacionais ilustrativos e demonstração da técnica correta, melhorando a relação custo-eficácia, resultados clínicos, satisfação do paciente e adesão ao tratamento. Sendo uma ótima oportunidade para os farmacêuticos atuarem na atenção farmacêutica, visando a farmacoterapia racional, obtendo resultados definidos, melhorando a qualidade de vida respeitando suas especificidades biopsicossociais.

## REFERÊNCIAS

Betinjane AJ, Silva FA, Paranhos AJr, Lima FEL, Omi CA, Almeida HG, et al. **2º Consenso Brasileiro de Glaucoma Primário de ângulo aberto**. São Paulo :PlanMark ; 2005. 31 p

Conselho Nacional de Saúde (Brasil). **Resolução Nº 338, DE 06 DE MAIO DE 2004**. Aprova a Política Nacional de Assistência Farmacêutica do Ministério da Saúde. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 maio 2004. Seção 1, n. 96.

Eaton AM, Gordon GM, Konowal A, Allen A, Allen M, Sgarlata A et al. **A novel eye drop application monitor to assess patient compliance with a prescribe dregimen: a pilot study**. *Eye* (2015) 29, 1383–1391

Feng A, O’neill J, Holt M,Georgiadis C, Wright MM, Montezuma SR. **Success of patient training in improvingproficiencyofeyedropadministrationamongvariousophthalmicpatientpopulations**. 2016 August : 1507-1508 p.

Gupta N, Aung T, Congdon N, Dada T, Lerner F,Olawoye S, et al. **Diretrizes do ICO para Tratamento do Glaucoma**. 1ª ed. São Paulo :Arco InternationalLanguages ; 2016. 02 p.

MC Veigh KA, Vakros G. **The eye drop chart: a pilot study for improving administration of and compliance with topical treatments in glaucoma patients**. *Clinical Ophthalmology* 2015:9

Miguel AIM, Fonseca C, Oliveira N, Henriques F, Silva JF. **Dificuldades no cotidiano dos pacientes com glaucoma avançado – avaliação objetiva com registro em vídeo**. *Rev. Bras. Oftalmol.* 2015; 74 (3) : 164-70.

De Moraes G, Liebmann JM, Levin LA. **Detection and measure ment of clinically meaningful visual field progression in clinical trials for glaucoma**. *Prog Retin Eye Res.* 2017 January ; 56: 107–147. doi:10.1016/j.preteyeres.2016.10.001.

Porth CM, Matfin G. **Fisiopatologia**. 8 ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogar ; 2010. 1427, 1428 p.

Sayner R, Carpenter DM, Robin AL, Blalock SJ, Muir KW, Vitko M et al.**How glaucoma patient characteristics, self-efficacy, and patient-provider communication are associated with eye drop technique**. *Int J PharmPract.* 2016 April ; 24(2): 78–85. doi:10.1111/ijpp.12215.

Silva EV, Naves JOS, Vidal J. **O papel do farmacêutico comunitário no aconselhamento ao**

**paciente.** Farmacoterapêutica. 2008, jul-out ; número 4 e 5 : 1p .

Tatham AJ, Sarodia U, Gatrad F, Awan A. **Eye drop in stillation technique in patients with glaucoma.** Eye (2013) 27, 1293–1298

Xu L, Wang X, Wu M. **Topical medication in stillation techniques for glaucoma.** Cochrane DatabaseSyst Rev.; 2: CD010520. doi:10.1002/14651858.CD010520.pub2.

## ATUAÇÃO DA VITAMINA D E SEU RECEPTOR SOBRE PROCESSOS IMUNOLÓGICOS E PERFIS IMUNOGENÉTICOS RELACIONADOS À HANSENÍASE

### **Jasna Leticia Pinto Paz**

Universidade do Estado do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia, Belém – Pará

### **Letícia Siqueira Moura**

Universidade do Estado do Pará, Belém – Pará

### **Karla Valéria Batista Lima**

Instituto Evandro Chagas, Ananindeua - Pará  
Universidade do Estado do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia, Belém – Pará

### **Luana Nepomuceno Gondim Costa Lima**

Instituto Evandro Chagas, Ananindeua - Pará  
Universidade do Estado do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia, Belém – Pará

**RESUMO:** A vitamina D é adquirida, principalmente, através da síntese epidérmica sob exposição solar, mas que pode também ser adquirida por meio da alimentação ou suplementação. Para que seja absorvida pelo organismo e utilizada em seus processos biológicos, é necessário que seja convertida em 1,25(OH)2D3 (vitamina D3). Tanto a vitamina D3 quanto o receptor de vitamina D (VDR) atuam diretamente em processos imunológicos típicos e quadros patológicos, que vão de doenças infecciosas, como a tuberculose, a autoimunes, como a artrite reumatóide. Sua

atuação no sistema imunológico abrange tanto a resposta imune inata quanto a adquirida. Os polimorfismos do gene *VDR*, que codifica o receptor, têm sido associados a ocorrência de determinadas patologias. Os níveis de vitamina D3 e de expressão de mRNA de *VDR* apresentam relações com a ocorrência de doenças como a hanseníase, atuando na susceptibilidade à hanseníase por si e às formas clínicas desenvolvidas, onde alteram os perfis de resposta celular Th1 e Th2. As variações genéticas entre populações representam uma questão de importância sobre essas características.

**PALAVRAS-CHAVE:** VDR. 1,25(OH)2D3. Imunologia

### VITAMIN D AND ITS RECEPTOR'S ACTING ON IMMUNOLOGICAL PROCESSES AND IMMUNOGENETIC PROFILES RELATED TO LEPROSY

**ABSTRACT:** Vitamin D is acquired mainly through epidermal synthesis under sun exposure, but can also be acquired through diet or supplementation. In order to be absorbed by the body and used in its biological processes, it must be converted to 1,25 (OH) 2D3 (vitamin D3). Both the vitamin D3 and the vitamin D receptor (VDR) act directly on typical immune

processes and pathological conditions, ranging from infectious diseases such as tuberculosis to autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis. Its role in the immune system encompasses both innate and acquired immune responses. Polymorphisms of the VDR gene, which encodes the receptor, have been associated with the occurrence of certain pathologies. Vitamin D3 and VDR mRNA expression levels are related to the occurrence of diseases such as leprosy, acting on the susceptibility to leprosy per se and to the clinical forms developed, which alter the Th1 and Th2 cell response profiles. Genetic variations between populations represent an important question about these traits.

**KEYWORDS:** VDR. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Immunology

## 1 | VITAMINA D E O RECEPTOR DE VITAMINA D (VDR)

Há muito se estuda os efeitos regulatórios do hormônio chamado vitamina D sobre o organismo, ficando conhecida, inicialmente, por favorecer a homeostase do cálcio (BOUILLON; OKAMURA; NORMAN, 1995). A vitamina D atualmente tem suas pesquisas voltadas também à sua atuação no sistema imunológico, tanto nas respostas inatas como adaptativas (SHIN et al., 2010; VASILIOU et al., 2014). Com diversas vias de atuação, tem a capacidade de estimular e suprimir cascatas imunológicas, com, por exemplo, a indução e inibição da produção de citocinas e outros componentes imunes (PENNA; ADORINI, 2000; CANNING et al., 2001).

Na imunidade inata, uma das participações observadas foi da ativação de Receptores do tipo Toll-Like (TLR) em monócitos, aumentando a atuação microbicida (LAI; GALLO, 2009). Na resposta adaptativa, há relatos de efeito supressor da vitamina D<sub>3</sub> sobre as células T helper tipo 1 (Th1), ao contrário disso, nas células Th2 e Treg pode haver uma estimulação indireta (CANTORNA et al., 2015; VAN DER HARST; VERWEIJ, 2018).

A forma inicial da vitamina D, sintetizada na epiderme sob incidência de raios UV, não é aproveitada pelo organismo, ela precisa ser convertida em uma de suas formas ativas, a vitamina D<sub>2</sub> (Ergocalciferol) ou, a principal delas, vitamina D<sub>3</sub>, o calcitriol (KOREN, 2006). A enzima 1-alfa-hidroxilase catalisa a conversão final em 1-alfa,25-di-hidroxivitamina D ou 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (TAKEYAMA et al., 1997).

É preciso ressaltar a importância dessa vitamina sobre o funcionamento do sistema ósseo. Estudos moleculares demonstram que o tratamento com vitamina D sobre seus receptores específicos altera a expressão e a atividade de ligação aos genes de fatores de transcrição em células ósseas (SHIAU et al., 1998).

O receptor de vitamina D (VDR) atua no interior de suas células-alvo, especificamente no núcleo, regulando a expressão gênica. Para que exerça suas funções, o VDR precisa estar associado ao receptor X retinóide (RXR), formando o heterodímero VDR/RXR. Ao ser ativado pela 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, o receptor sofre uma mudança conformacional e aciona uma cascata imunológica (KOREN, 2006;

CAMPBELL et al., 2010).

Em humanos, o gene *VDR*, que codifica o receptor de nome homólogo, está localizado no cromossomo 12 (SZPIRER et al., 1991). Possui 11 éxons, destes, os éxons 2 e 3 estão envolvidos na ligação ao DNA e os éxons 7,8 e 9 são responsáveis pela ligação à vitamina D (HUGHES et al., 1988; MIYAMOTO et al., 1997).

Níveis desse hormônio em portadores de esclerose múltipla afetaram diretamente o desenvolvimento da mesma. A presença de altos níveis no momento do primeiro evento desmielinizante promoveu efeito protetivo, com menor risco na progressão da doença (ASCHERIO et al., 2011). Já em casos de urticária crônica, mudanças na via metabólica de vitamina D, relacionadas a proteínas de ligação e assim como o polimorfismo nos genes das proteínas e do receptor de vitamina D, podem ser fortes fatores de risco para a evolução de quadros (ABU EL MAATY; WÖLFL, 2017).

É observada possível interferência da vitamina D no estado de equilíbrio imunológico diante de reações do sistema, exercendo outra de suas ações, o efeito parácrino sobre a liberação de linfócitos, regulação da diferenciação de células T e inibição da citotoxicidade em reações linfocitárias (BHALLA; AMENTO; KRANE, 1986; MEEHAN; KERMAN; LEMIRE, 1992; CHANG et al., 2010).

A redução da produção de IL-2 e IFN- $\gamma$  é parcialmente mediada pela ligação do heterodímero de receptores VDR/RXR aos elementos de resposta da vitamina D (VDRE) nos promotores dos seus genes codificantes, essa redução ocorre principalmente em células T de memória. Há relatos de células T inespecíficas tratadas com 1,25(OH) $_2$ D $_3$  suprimindo respostas primárias de linfócitos mistos e células T citotóxicas (MEEHAN; KERMAN; LEMIRE, 1992; CIPPITELLI; SANTONI, 1998; VELDMAN; CANTORNA; DELUCA, 2000).

Em doenças autoimunes e transplantes, a vitamina D $_3$  atua na prevenção de fortes respostas Th1 ao mesmo tempo que aumenta respostas Th2, na ausência de APC. Em ensaios *in vivo*, com camundongos, a administração de vitamina D $_3$  resultou no aumento da produção e expressão de IL-4 e diminuição dos níveis de IFN- $\gamma$  (BOONSTRA et al., 2001; GREGORI et al., 2001).

Estudos sugerem uso da vitamina no tratamento de artrite reumatoide, para controle da inflamação. Pesquisas *in vivo* demonstraram que concentrações específicas de vitamina D $_3$  foram capazes de reduzir a proliferação celular e induzir apoptose. Para além disso, foi verificada capacidade inibitória sobre a via de sinalização de NF-kB. Deste modo, a vitamina é capaz de amenizar o avanço da doença (WANG et al., 2016; SUN et al., 2019).

Outra forma de atuação conhecida da vitamina D é na inibição do fator nuclear kappa B (NF-kB), este que pode favorecer a susceptibilidade imunológica à *M. leprae*, especialmente à forma multibacilar da hanseníase (TELES et al., 2013; WAMBIER et al., 2014; TONIATO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017). Estudos sugerem aplicação da terapia com vitamina D em pacientes com asma, para atuação contra a ativação

excessiva do NF- $\kappa$ B nas atividades das células musculares lisas das vias aéreas humanas (SONG et al., 2013).

A participação da vitamina D em processos imunológicos de combate a outras infecções micobacterianas corroboram a proposta de que a terapia com vitamina D seja utilizada como adjuvante no tratamento da hanseníase (MANDAL et al., 2015).

## 2 | POLIMORFISMOS DO GENE *VDR* EM DOENÇAS

Possivelmente a primeira mutação patológica identificada molecularmente em gene de receptor de hormônio esteroide ocorreu no receptor de vitamina D. A doença descoberta se chama raquitismo dependente de vitamina D tipo 2A (HUGHES et al., 1988). Essa enfermidade tem como característica hipocalcemia na presença de altos níveis séricos de vitamina D<sub>3</sub>, que gera diminuição dos órgãos-alvos à vitamina (BROOKS et al., 1978; MARX et al., 1978).

Uma vez envolvido em processos de resposta imune, o receptor de vitamina D pode ser relacionado à susceptibilidade em algumas doenças. Tanto os níveis de vitamina D<sub>3</sub>, quanto de expressão de mRNA de *VDR* apresentam relações com a ocorrência de hanseníase. Uma vasta gama de estudos tem demonstrado uma possível associação direta entre os polimorfismos no gene do receptor de vitamina D, que pertence à família de supergenes de receptores nucleares, e a ocorrência de doenças autoimunes e infecciosas, dentre as quais, outras infecções micobacterianas (HUANG et al., 2015; MANDAL et al., 2015; JOLLIFFE et al., 2016).

A atuação em atividades imunomoduladoras do VDR vem sido estudadas em algumas doenças. Sob indução do TGF- $\beta$  (Fator de crescimento transformador  $\beta$ ), a ativação de fibroblastos de ratos com esclerose sistêmica foi influenciada pela queda nos níveis de expressão do *VDR*, que aumentou a sensibilidade ao fator de crescimento. A estimulação com paracalcitrol (droga similar à vitamina D<sub>2</sub>) reduziu a estimulação do TGF- $\beta$  sobre os fibroblastos e influenciou de modo antifibrótico, expressando, assim, seu papel imunoregulador em quadros de fibrose (ZERR et al., 2015).

No epitélio intestinal, a sinalização do VDR participa da regulação de processos inflamatórios do cólon, resguardando a integridade da barreira epitelial. Isso faz com que o receptor seja negativamente regulado e tenha sua detecção reduzida em biópsias de pacientes com colite. Estudos experimentais com camundongos demonstraram que, diante da deficiência de vitamina D, inflamações foram agravadas (DU et al., 2017).

A vitamina D sintetizada no cólon pode atuar sobre componentes imunológicos locais para suprimir a inflamação nos tecidos. Ela tem a capacidade de inibir o perfil de resposta celular T auxiliar 17 (Th17) e promover o perfil de resposta das células T reguladoras (Treg) (DU et al., 2017). Em experimentos *in vitro* com sangue periférico humano, ativado com anticorpos e com a presença de citocinas Th17, foi realizado

tratamento com vitamina D3. A partir daí, os experimentos demonstram diminuição significativa de IL-17A (citocina Th17), sem afetar a expressão de miRNAs (HUANG et al., 2017).

Na doença de Crohn, a suplementação com vitamina D auxilia o aprimoramento das funções das barreiras intestinais. (ZERR et al., 2015; DIMITROV; WHITE, 2017)1,25-(OH).

É importante ressaltar que, assim como quaisquer outras configurações genéticas, os polimorfismos do *VDR* não obedecem necessariamente a um padrão de distribuição global, mas com perfis genotípicos diferentes em etnias distintas. Enquanto a predominância genotípica de Apal tende a ser Aa em indivíduos de diferentes continentes, TaqI se divide em Tt e TT até mesmo em países do mesmo continente. O polimorfismo TaqI, através do genótipo TT, se mostrou presente em doentes, enquanto o genótipo Tt prevaleceu em controles saudáveis de estudo realizado no México. (VELARDE FÉLIX et al., 2009; HADDAD, 2014).

O polimorfismo no gene do receptor de vitamina D denominado *FokI* tem sido relacionado a distintos quadros patológicos. Dentre eles, foi relatada influência sobre a ocorrência de doenças infecciosas, como a tuberculose em asiáticos, e sobre atuações de doenças autoimunes, como a esclerose múltipla (HUANG et al., 2015; ABDOLLAHZADEH et al., 2017).

### 3 | POLIMORFISMOS DO GENE *VDR* NA HANSENÍASE

Estudos apontam que os polimorfismos nos sítios Apal, TaqI, FokI e BsmI podem afetar a estabilidade do RNAm, alterando significativamente os níveis de proteínas, o qual resulta em um desequilíbrio da resposta imune do hospedeiro, tanto Th1 quanto Th2. Deste modo, a forma clínica a ser desenvolvida e severidade da doença são afetadas (NEELA et al., 2015).

Pesquisas demonstraram provável relação de polimorfismos no gene *VDR* com o desenvolvimento da hanseníase, além da progressão aos polos da mesma. Estudo indiano aponta os genótipos FokI ff, Apal AA e Aa, assim como os haplótipos de T-F-a e T-f-a (*TaqI-FokI-Apal*) como característica de grupos de risco de desenvolvimento da doença, através de alteração no fenótipo *VDR* e conseqüentemente na cascata imunológica em que está envolvido (NEELA et al., 2015).

Estudo pioneiro, realizado na Índia, analisou a influência do polimorfismo *TaqI*, do gene *VDR*, sobre as diferentes formas da hanseníase. Esse primeiro trabalho demonstrou uma diferença estatisticamente significativa entre os genótipos de controles saudáveis e pessoas com as duas principais formas da doença. O genótipo *tt* teve frequência altamente significativa nos indivíduos da forma tuberculóide, sendo provável que esse genótipo afete a diferenciação e maturação das células T, portanto, dificultando a resposta imune e favorecendo a susceptibilidade à hanseníase. O genótipo *Tt* foi mais frequente nos controles, proporcionando indícios

de proteção (ROY et al., 1999). No Malawi, foram também encontradas evidências da susceptibilidade relacionada ao genótipo *tt* do gene *VDR* (FITNESS et al., 2004).

Um trabalho no Brasil reforça a ideia de *tt* estar atuando no desenvolvimento das células T, predominantemente em virchowianos, apesar de não obter diferença estatística significativa. Pacientes com este genótipo apresentaram índices baciloscópicos mais altos. A junção de genótipo *tt* com teste de Mitsuda negativo e baciloscopia positiva demonstram uma predisposição ao desenvolvimento da doença. Os dados do teste de Mitsuda e genótipo sozinhos já conferem 4,5 vezes mais chances de desenvolvimento da doença (GOULART; FERREIRA; GOULART, 2006).

O genótipo *Tt*, que pode estar conferindo proteção, foi novamente encontrado em controles saudáveis em uma pesquisa realizada no México com alta significância estatística. A relação entre o genótipo *TT* e virchowianos também se repete com significância (VELARDE FÉLIX et al., 2009).

Uma pesquisa posterior realizada na Índia estudou os três polimorfismos, *TaqI*, *FokI* e *Apal*. Os autores não encontraram evidências suficientes que relacionasse o haplótipo com a hanseníase por si. Contudo, isoladamente o genótipo *ff* e o alelo *f* foram considerados marcadores de susceptibilidade à forma paucibacilar da doença. Segundo essa pesquisa, no polimorfismo *Apal* os genótipos *AA*, *Aa* e o alelo *A* podem conferir susceptibilidade à hanseníase por si e à forma multibacilar. Nenhuma associação significativa foi encontrada no polimorfismo *TaqI*. No que se refere aos haplótipos, o panorama é um pouco diferente, *T-F-a* e *T-f-a* apresentaram relação de susceptibilidade a doença “per si”, pois foram predominantes nas formas PB e MB, respectivamente (NEELA et al., 2015).

Nem todos os trabalhos alcançam relações entre a hanseníase e estes polimorfismos, isso se deve a diferenças étnicas, de amostragem e desenho de estudo. Importante ressaltar que cada população possui características genéticas próprias e isso deve ser considerado em estudos genéticos de populações (SAPKOTA et al., 2010).

Apesar de não ser comumente alvo de estudo, a diferença entre os níveis de expressão do gene *VDR* de virchowianos e pacientes com reação reversa já foi demonstrada (TELES et al., 2013).

A expressão do gene *VDR* em hansenianos pode ser em torno de 5 a 10% menor que em pessoas sem a doença, corroborando este dado, os níveis de 1,25(OH)2D3 no sangue de doentes também se mostram reduzidos. Devido a isso, pesquisadores sugerem a terapia com *VDR* como um auxiliar no tratamento desses pacientes (MANDAL et al., 2015).

Contudo, há que se ressaltar a necessidade de mais estudos acerca da influência da vitamina D e seus receptores sobre os processos de resposta imunológica dos indivíduos contra a hanseníase, para que estes possam agregar ainda mais conhecimento acerca do amplo aspecto imunológico dos hospedeiros,

com a possibilidade de subsidiar novas abordagens terapêuticas e profiláticas.

## REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHZADEH, R. et al. **Association of VDR gene polymorphisms with risk of relapsing-remitting multiple sclerosis in an Iranian Kurdish population.** International Journal of Neuroscience, v. 128, n. 6, p.505-511, out. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/00207454.2017.1398158>>. Acesso em: 29 jun. 2019.
- ABU EL MAATY, M. A.; WÖLFL, S. **Vitamin D as a Novel Regulator of Tumor Metabolism: Insights on Potential Mechanisms and Implications for Anti-Cancer Therapy.** International journal of molecular sciences, v. 18, n. 10, p. 2184, out. 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29048387>>. Acesso em: 2 ago. 2019.
- ASCHERIO, A. et al. **Sun exposure and vitamin D are independent risk factors for CNS demyelination.** Neurology, v. 77, n. 14, p. 1405-1406, out. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21968847>>. Acesso em: 5 ago. 2019.
- BHALLA, A. K.; AMENTO, E. P.; KRANE, S. M. **Differential effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human lymphocytes and monocyte/macrophages: Inhibition of interleukin-2 and augmentation of interleukin-1 production.** Cellular Immunology, v. 98, n. 2, p. 311–322, abr. 1986. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0008-8749\(86\)90291-1](https://doi.org/10.1016/0008-8749(86)90291-1)>. Acesso em: 28 jul. 2019.
- BOONSTRA, A. et al. **1,25-Dihydroxyvitamin D3 Has a Direct Effect on Naive CD4+ T Cells to Enhance the Development of Th2 Cells.** The Journal of Immunology, v. 167, n. 9, p. 4974–4980, nov. 2001. Disponível em: <<http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.167.9.4974>>. Acesso em: 16 jul. 2019.
- BOUILLON, R.; OKAMURA, W. H.; NORMAN, A. W. **Structure-Function Relationships in the Vitamin D Endocrine System.** Endocrine Reviews, v. 16, n. 2, p. 200–257, abr. 1995. Disponível em: <<https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/edrv-16-2-200>>. Acesso em: 5 ago. 2019.
- BROOKS, M. H. et al. **Vitamin-D-Dependent Rickets Type II.** New England Journal of Medicine, v. 298, n. 18, p. 996–999, mai. 1978. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM197805042981804>>. Acesso em: 5 ago. 2019.
- CAMPBELL, F. C. et al. **The yin and yang of vitamin D receptor (VDR) signaling in neoplastic progression: operational networks and tissue-specific growth control.** Biochemical pharmacology, v. 79, n. 1, p. 1–9, jan. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19737544>>. Acesso em: 5 ago. 2019.
- CANNING, M. O. et al. **1-alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 (1,25(OH)(2)D(3)) hampers the maturation of fully active immature dendritic cells from monocytes.** European journal of endocrinology, v. 145, n. 3, p. 351–357. set. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11517017>>. Acesso em: 5 ago. 2019.
- CANTORNA, M. T. et al. **Vitamin D and 1,25(OH)2D regulation of T cells.** Nutrients, v. 7, n. 4, p. 3011–3021, abr. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25912039>>. Acesso em: 5 ago. 2019.
- CHANG, J. H. et al. **1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits the differentiation and migration of TH17 cells to protect against experimental autoimmune encephalomyelitis.** PLoS ONE, v. 5, n. 9, p. 1–12, set. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2944871/>>. Acesso em: 15 jul. 2019.
- CIPPITELLI, M.; SANTONI, A. **Vitamin D3: a transcriptional modulator of the interferon-gamma gene.** European journal of immunology, v. 28, n. 10, p. 3017–3030, out. 1998. Disponível em: <<http://>>

[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9808170](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9808170)>. Acesso em: 22 jul. 2019.

DIMITROV, V.; WHITE, J. H. **Vitamin D signaling in intestinal innate immunity and homeostasis.** *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 453, p. 68–78, set. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2017.04.010>>. Acesso em: 23 jul. 2019.

DU, J. et al. **Microbiota-Dependent Induction of Colonic Cyp27b1 Is Associated With Colonic Inflammation: Implications of Locally Produced 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in Inflammatory Regulation in the Colon.** *Endocrinology*, v. 158, n. 11, p. 4064–4075, nov. 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28938443>>. Acesso em: 1 ago. 2019.

FITNESS, J. et al. **Large-scale candidate gene study of tuberculosis susceptibility in the Karonga district of northern Malawi.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 71, n. 3, p. 341–349, set. 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15381817>>. Acesso em: 29 jul. 2019.

GOULART, L. R.; FERREIRA, F. R.; GOULART, I. M. B. **Interaction of TaqI polymorphism at exon 9 of the vitamin D receptor gene with the negative lepromin response may favor the occurrence of leprosy.** *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, v. 48, n. 1, p. 91–98, out. 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16965356>>. Acesso em: 18 jul. 2019.

GREGORI, S. et al. **Regulatory T Cells Induced by 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and Mycophenolate Mofetil Treatment Mediate Transplantation Tolerance.** *The Journal of Immunology*, v. 167, n. 4, p. 1945–1953, ago. 2001. Disponível em: <<http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.167.4.1945>>. Acesso em: 01 ago. 2019.

HADDAD, S. **Vitamin-D receptor (VDR) gene polymorphisms (Taq-I & Apa-I) in Syrian healthy population.** *Meta Gene*, v. 2, p. 646–650, set. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mgene.2014.08.005>>. Acesso em: 29 jul. 2019.

HUANG, J. et al. **1,25-Dihydroxyvitamin D3 Does Not Affect MicroRNA Expression When Suppressing Human Th17 Differentiation.** *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, v. 23, p. 535–541, jan. 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28133358>>. Acesso em: 2 ago. 2019.

HUANG, L. et al. **Vitamin D Receptor Gene FokI Polymorphism Contributes to Increasing the Risk of Tuberculosis.** *Medicine*, v. 94, n. 51, p. e2256, dez. 2015. Disponível em: <<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00005792-201512210-00010>>. Acesso em: 18 set. 2018

HUGHES, M. R. et al. **Point mutations in the human vitamin D receptor gene associated with hypocalcemic rickets.** *Science*, v. 242, n. 4886, p. 1702–1705, dez. 1988. Disponível em: <<https://science.sciencemag.org/content/242/4886/1702.long>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

JOLLIFFE, D. A. et al. **Single nucleotide polymorphisms in the vitamin D pathway associating with circulating concentrations of vitamin D metabolites and non-skeletal health outcomes: Review of genetic association studies.** *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v. 164, p. 18–29, nov. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.12.007>>. Acesso em: 25 jul. 2019.

KOREN, R. **Vitamin D receptor defects: the story of hereditary resistance to vitamin D.** *Pediatric endocrinology reviews: PER*, v. 3 Suppl 3, p. 470–475, ago. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17551468>>. Acesso em: 4 ago. 2019.

LAI, Y.; GALLO, R. L. **AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense.** *Trends in immunology*, v. 30, n. 3, p. 131–141, mar. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19217824>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

MANDAL, D. et al. **Vitamin D receptor expression levels determine the severity and complexity**

**of disease progression among leprosy reaction patients.** *New Microbes and New Infections*, v. 6, p. 35–39, 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2052297515000311>>. Acesso 24 set. 2018

MARX, S. J. et al. **A Familial Syndrome of Decrease in Sensitivity to 1,25-Dihydroxyvitamin D.** *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 47, n. 6, p. 1303–1310, dez. 1978. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-47-6-1303>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

MEEHAN, M. a.; KERMAN, R. H.; LEMIRE, J. M. **1,25-Dihydroxyvitamin D3 enhances the generation of nonspecific suppressor cells while inhibiting the induction of cytotoxic cells in a human MLR.** *Cellular Immunology*, v. 140, n. 2, p. 400–409, 1992. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0008874992902065>>. Acesso em: 28 jul. 2019.

MIYAMOTO, K. et al. **Structural Organization of the Human Vitamin D Receptor Chromosomal Gene and Its Promoter.** *Molecular Endocrinology*, v. 11, n. 8, p. 1165–1179, jul. 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mend/article-lookup/doi/10.1210/mend.11.8.9951>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

NEELA, V. S. K. et al. **Association of Taq I, Fok I and Apa I polymorphisms in Vitamin D Receptor (VDR) gene with leprosy.** *Human Immunology*, v. 76, n. 6, p. 402–405, jun. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2015.04.002>>. Acesso em: 07 jun. 2019.

OLIVEIRA, A. L. G. de et al. **Vitamin D receptor expression and hepcidin levels in the protection or severity of leprosy: a systematic review.** *Microbes and Infection*, v. 19, n. 6, p. 311–322, jun. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2017.03.001>>. Acesso em: 24 set. 2018.

PENNA, G.; ADORINI, L. **1 Alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation.** *The Journal of Immunology*, v. 164, n. 5, p. 2405–2411, mar. 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10679076>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

ROY, S. et al. **Association of Vitamin D Receptor Genotype with Leprosy Type.** *The Journal of Infectious Diseases*, v. 179, n. 1, p. 187–191, jan 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/314536>>. Acesso: 22 set. 2018

SAPKOTA, B. R. et al. **Association of TNF, MBL, and VDR polymorphisms with leprosy phenotypes.** *Hum Immunol*, v. 71, n. 10, p. 992–998, out. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2010.07.001>>. Acesso em 30 ago. 2018

SHIAU, A. K. et al. **The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen.** *Cell*, v. 95, n. 7, p. 927–937, dez. 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9875847>>. Acesso em: 1 ago. 2019.

SHIN, D.-M. et al. **Mycobacterial lipoprotein activates autophagy via TLR2/1/CD14 and a functional vitamin D receptor signalling.** *Cellular Microbiology*, v. 12, n. 11, p. 1648–1665, nov. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20560977>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

SONG, Y. et al. **1,25-Dihydroxyvitamin D3 Inhibits Nuclear Factor Kappa B Activation by Stabilizing Inhibitor IκBα via mRNA Stability and Reduced Phosphorylation in Passively Sensitized Human Airway Smooth Muscle Cells.** *Scandinavian Journal of Immunology*, v. 77, n. 2, p. 109–116, fev. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/sji.12006>>. Acesso em 24 jul. 2018

SUN, H.-Q. et al. **1,25-Dihydroxyvitamin D3 attenuates disease severity and induces synoviocyte apoptosis in a concentration-dependent manner in rats with adjuvant-induced arthritis by inactivating the NF-κB signaling pathway.** *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, v. 37, n. 3, p. 430–440, maio 2019. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30097709>>. Acesso em: 2 ago. 2019.

SZPIRER, J. et al. **The Sp1 transcription factor gene (SP1) and the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor gene (VDR) are colocalized on human chromosome arm 12q and rat chromosome 7.** *Genomics*, v. 11, n. 1, p. 168–173, set. 1991. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/088875439190114T?via%3Dihub>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

TAKEYAMA, K. et al. **25-Hydroxyvitamin D3 1 $\alpha$ -Hydroxylase and Vitamin D Synthesis.** *Science*, v. 277, n. 5333, p. 1827–1830, 1997. Disponível em: <<https://science.sciencemag.org/content/277/5333/1827.long>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

TELES, R. M. B. et al. **Type I interferon suppresses type II interferon-triggered human anti-mycobacterial responses.** *Science*, v. 339, n. 6126, p. 1448–1453, mar. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1126/science.1233665>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

TONIATO, E. et al. **Immunomodulatory Effects of Vitamin D on Skin Inflammation.** *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, v. 29, n. 3, p. 563–567, jul. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26403394>>. Acesso em: 03 ago. 2019.

VAN DER HARST, P.; VERWEIJ, N. **Identification of 64 Novel Genetic Loci Provides an Expanded View on the Genetic Architecture of Coronary Artery Disease.** *Circulation Research*, v. 122, n. 3, p. 433–443, fev. 2018. Disponível em: <<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.117.312086>>. Acesso em: 24 jul. 2019.

VASILIOU, J. E. et al. **Vitamin D deficiency induces Th2 skewing and eosinophilia in neonatal allergic airways disease.** *Allergy*, v. 69, n. 10, p. 1380–1389, out. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24943330>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

VELARDE FÉLIX, J. S. et al. **Relación del polimorfismo TaqI del gen del receptor de la vitamina D con la lepra lepromatosa en población mexicana.** *Salud Publica de Mexico*, v. 51, n. 1, p. 59–61, fev. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342009000100011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342009000100011)>. Acesso em: 12 ago. 2018.

VELDMAN, C. M.; CANTORNA, M. T.; DELUCA, H. F. **Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D3receptor in the immune system.** *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 374, n. 2, p. 334–338, fev. 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1605>>. Acesso em: 28 jul. 2019.

WAMBIER, C. et al. **NF $\kappa$ B activation in cutaneous lesions of leprosy is associated with development of multibacillary infection.** *Journal of Inflammation Research*, v. 7, p. 133-138, ago. 2014. Disponível em: <<http://www.dovepress.com/nfkappab-activation-in-cutaneous-lesions-of-leprosy-is-associated-with-peer-reviewed-article-JIR>>. Acesso em: 23 jul. 2018

WANG, Z. et al. **A large-scale genome-wide association and meta-analysis identified four novel susceptibility loci for leprosy.** *Nature Communications*, v. 7, dez. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/ncomms13760>>. Acesso em: 24 jul. 2018.

ZERR, P. et al. **Vitamin D receptor regulates TGF- $\beta$  signalling in systemic sclerosis.** *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 74, n. 3, mar. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204378>>. Acesso em: 02 ago. 2019.

## AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E PESO CORPORAL EM CAMUNDONGOS SWISS MACHOS TRATADOS COM EXTRATO METANÓLICO DE PLANTA MEDICINAL

### **Dayane de Melo Barros**

Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente  
– Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE- Pernambuco

### **Priscilla Gregorio de Oliveira Sousa**

Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente  
– Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE- Pernambuco

### **Danielle Feijó de Moura**

Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente  
– Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE – Pernambuco

### **Marton Kaique de Andrade Cavalcante**

Bacharel em Enfermagem – Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE- Pernambuco

### **Merielly Saeli de Santana**

Bacharel em Nutrição – Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE – Pernambuco

### **Marilyn Marques da Silva**

Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente  
– Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE – Pernambuco

### **Silvio Assis de Oliveira Ferreira**

Mestre em Bioquímica e Fisiologia – Universidade Federal de Pernambuco – Pernambuco

### **Laryssa Rebeca de Souza Melo**

Estudante de graduação em Nutrição – Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de

Pernambuco, CAV/UFPE – Pernambuco

### **Gisele Priscilla de Barros Alves Silva**

Especialista em Saúde Pública – Faculdades Integradas da Vitória de Santo Antão– Pernambuco

### **José André Carneiro da Silva**

Especialista em Saúde Pública – Faculdades Integradas da Vitória de Santo Antão– Pernambuco

### **Ana Cláudia Barbosa da Silva Padilha**

Especialista em Ensino das Ciências Biológicas – Faculdades Integradas da Vitória de Santo Antão– Pernambuco

### **Isla Ariadny Amaral de Souza Gonzaga**

Bacharel em Enfermagem – Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE- Pernambuco

### **Roberta de Albuquerque Bento da Fonte**

Doutora em Nutrição – Universidade Federal de Pernambuco – Pernambuco

### **Tamiris Alves Rocha**

Doutora em Ciências Biológicas – Universidade Federal de Pernambuco – Pernambuco

**RESUMO:** As ervas medicinais tem na sua utilização uma grande importância, pois são de fácil acesso, baixo custo e possuem propriedades terapêuticas eficazes. Levando em consideração a biodiversidade vegetal, a caatinga destaca-se, por se tratar de um bioma

que possui uma extensa variedade de espécies, a *Pityrocarpa moniliformis* (angelim) por exemplo é uma das mais encontradas nessa região. Esta espécie vegetal possui diversas atividades com potencial terapêutico o que provoca o interesse da comunidade científica em elucidar a relação risco/benefício que sua utilização pode ocasionar aos indivíduos, para isso se fazem necessários ensaios toxicológicos. A toxicidade originada por uso de doses inadequadas de um composto pode ser determinada devido à descompensação do organismo analisado não necessariamente sendo desencadeada por um efeito tóxico específico. Diante disso, o objetivo do estudo foi avaliar o consumo alimentar e o peso corporal em camundongos Swiss machos tratados com extrato metanólico de *Pityrocarpa moniliformis*. Os camundongos Swiss foram divididos em dois grupos: controle (DMSO 10% e PBS) e teste (dose administrada de 2000 mg/kg do extrato de *P. moniliformis*), os mesmos foram aclimatados para análise do consumo alimentar e peso corporal durante 14 dias. Os dados revelaram que tanto a ingestão alimentar e hídrica quanto o peso corporal dos animais avaliados não apresentaram diferença significativa. Portanto, pode-se observar que possivelmente o extrato metanólico de *P. moniliformis* em dose de até 2000 mg/kg não confere toxicidade frente ao modelo animal estudado, porém, experimentos adicionais de toxicidade, serão realizados com a finalidade de melhor elucidar o potencial tóxico desta espécie vegetal.

**PALAVRAS-CHAVE:** Angelim. Biodiversidade. Espécies. *Pityrocarpa moniliformis*. Toxicidade.

**ABSTRACT:** Medicinal herbs are of great importance in their use because they are easily accessible, inexpensive and have effective therapeutic properties. Taking into account the plant biodiversity, the caatinga stands out because it is a biome that has a wide variety of species, the *Pityrocarpa moniliformis* (angelim) for example is one of the most found in this region. This plant species has several activities with therapeutic potential, which provokes the interest of the scientific community in elucidating the risk/benefit relationship that its use may cause to individuals, so toxicological tests are necessary. Toxicity from inadequate doses of a compound can be determined due to decompensation of the organism analyzed and not necessarily triggered by a specific toxic effect. Therefore, the objective of the study was to evaluate the food intake and body weight in male Swiss mice treated with *Pityrocarpa moniliformis* methanolic extract. Swiss mice were divided into two groups: control (DMSO 10% and PBS) and test (administered dose of 2000 mg/kg of *P. moniliformis* extract), they were acclimatized for analysis of food intake and body weight for 14 days. The data revealed that both food and water intake and body weight of the evaluated animals did not present significant difference. Therefore, it is possible to observe that the methanolic extract of *P. moniliformis* in doses up to 2000 mg/kg does not confer toxicity to the studied animal model plant species.

**KEYWORDS:** Angelim. Biodiversity Species. *Pityrocarpa moniliformis*. Toxicity

## INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais tem revelado cada vez mais que elas são importantes componentes da evolução humana e são consideradas como recursos terapêuticos iniciais usados pelos povos. As antigas civilizações possuem suas próprias referências históricas sobre as plantas medicinais e, muito antes de aparecer qualquer forma de escrita, o homem já utilizava as plantas e, entre estas, algumas como alimento e outras como remédio (TUROLLA e NASCIMENTO, 2006).

As ervas medicinais representam fator de grande relevância para a manutenção e melhora das condições de saúde dos indivíduos, contudo, a maioria dessas plantas é utilizada a partir do conhecimento empírico, notando-se a carência do conhecimento científico de seus atributos farmacológicos e toxicológicos (TOMAZZONI, NEGRELLE e CENTA, 2006; FIRMO et al., 2011).

Considerando a diversidade de espécies vegetais, a caatinga destaca-se, por se tratar de um bioma que contém uma ampla variedade de tipos vegetacionais, com alto número de espécies e também remanescentes de vegetação ainda bem preservada, que incluem um quantitativo significativo de táxons raros e endêmicos (GIULIETTI et al., 2003).

Dentre as espécies comumente encontradas na caatinga, a *Pityrocarpa moniliformis* pertencente à família Fabaceae é conhecida popularmente como Catanduva. É uma espécie pioneira de médio porte que possui rápido crescimento, no nordeste do Brasil ocorre principalmente em solos arenosos (LORENZI, 2002; MAIA, 2004).

*P. moniliformis* possui um fruto em forma de vagem plana, deiscente, atingindo até 13 cm de comprimento, de coloração marrom, coriácea, curvada, contraída entre as sementes, sua abertura ocorre apenas em um dos lados, evidenciando as sementes de coloração branca, ovais e comprimidas. Esta planta produz, anualmente, quantidades abundosas de sementes viáveis (MAIA, 2004).

As sementes de *P. moniliformis*, bem como as de outras espécies pertencentes à família Fabaceae, possuem aumentadas taxas de predação por insetos que ocorrem quando as sementes ainda estão nos frutos ligados à planta mãe. Os principais predadores das sementes dessa família são os besouros da família Bruchidae causando danos e promovendo a redução do vigor das sementes (LOUREIRO, CARVALHO e ROSSETTO, 2004; DONATO et al., 2010).

Com relação às suas propriedades biológicas referenciadas a *P. moniliformis* possui atividade antioxidante, fotoprotetora e antibacteriana. Essas moléculas bioativas apresentam potencial terapêutico, podendo melhorar a qualidade e a expectativa de vida ao atuarem contra o stress oxidativo, associado a muitas doenças crônicas e degenerativas. Contudo, a fim de melhorar a compreensão sobre a utilização de espécies vegetais, se faz necessário avaliar a relação risco/benefício de seu consumo, através de estudos toxicológicos (SORG, 2004; SILVA 2013; LIMA

et al., 2014)

A toxicidade causada por uso de doses inadequadas de um determinado extrato vegetal pode ser determinada por descompensação do organismo avaliado e não necessariamente devido a uma ação tóxica específica (BORGES et al., 2003, 2005; SOUSA et al., 2008, 2011).

A toxicidade sistêmica de certa substância pode ser evidenciada, através de diminuição no consumo de água e ração, mudança comportamental, apatia, condição inadequada de pelagem e alteração da massa relativa dos órgãos (MELO, 2001; GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

O peso corporal é um dos parâmetros mais aplicados em avaliações toxicológicas como indicativo do surgimento, muitas vezes precoce, de ações tóxicas originadas por uma substância no organismo animal. A ausência de mudanças nos parâmetros fisiológicos analisados reflete numa baixa toxicidade de determinado composto analisado (HAYES, 2001). Logo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o consumo alimentar e peso corporal em camundongos Swiss machos tratados com extrato metanólico de *Pityrocarpa moniliformis*.

## METODOLOGIA

Os grupos experimentais foram compostos por 6 camundongos Swiss (*Mus musculus*) machos pesando de 20 a 25g, provenientes do biotério do Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco – CAV/UFPE. Foram estabelecidos dois grupos: A e B, A (controle), recebeu DMSO 10% e PBS, veículo no qual os extratos foram diluídos e B (teste), com dose administrada de 2000mg/kg, todos os grupos foram compostos por três animais selecionados randomicamente e identificados, os mesmos foram aclimatados por um período mínimo de cinco dias, sob condições padrão (temperatura de  $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar de 30 a 70%, com controle do ciclo claro/escuro de 12h), para averiguação da: ingestão de ração e água e pesagem dos animais. Os animais receberam ração (Purina Labina®) e água ad libitum, estes foram mantidos em gaiolas de polipropileno (30x20x13 cm). O experimento contou com a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEUA (Protocolo nº 23076.052055/2014-21).

A coleta das folhas foi realizada no Parque Nacional do Catimbáu, em Buíque, Pernambuco, uma exsicata da espécie *P. moniliformes* foi encaminhada para Herbário do IPA (Instituto Agrônomo de Pernambuco), para identificação. As folhas foram trazidas para o laboratório de Produtos Naturais da UFPE, e foram secas na estufa de circulação de ar forçado (40-45°C), durante três dias, posteriormente foram trituradas em moinho. Após a trituração o material foi pesado e submetido à extração em extrator automático ASE 350 Dionex, utilizando o solvente metanol, sob temperatura de 40°C durante 15 minutos sob pressão de  $\pm 1500$  psi e fluxo de

solvente de 5 mL/min. Em seguida o extrato foi filtrado, e permaneceu a temperatura ambiente para secagem completa do solvente, após a extração, o extrato metanólico foi armazenado em vidro âmbar na temperatura ambiente.

No primeiro dia do experimento os dois grupos (n=3), A e B receberam DMSO 10% e PBS (veículo no qual o extrato foi diluído) e o extrato (2000mg/kg) respectivamente. Ambos administrados por via oral e todos receberam ração padrão e água em quantidades controladas para avaliação do consumo. Após a administração, os valores do consumo de água e ração, foram registrados todos os dias durante 14 dias. Vale salientar que, o peso corporal foi registrado diariamente para construção da curva de evolução e verificação de possível alteração de peso. Após o 14º de administração, os resultados quantitativos foram agrupados para análise estatística, mediante utilização do teste t de student, com pós-teste de Tukey, onde  $p < 0,05$  foi considerado como significativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo foram expressos com média  $\pm$  desvios padrão da média (três animais por grupo) tabela 1 e 2.

Parâmetros	Grupo A (DMSO 10%+PBS)	Grupo B (2000 mg/Kg)
Alimento consumido (g/dia/grupo)	21,76 $\pm$ 7,42	23,28 $\pm$ 14,65
Água consumida (mL/dia/grupo)	30,38 $\pm$ 9,00	38,46 $\pm$ 7,47

Tabela 1. Média dos valores obtidos do consumo alimentar e hídrico de camundongos machos avaliados durante 14 dias.

\*Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ).

O consumo alimentar e hídrico dos animais não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos experimentais A e B (Tabela 1). Os resultados sugerem que o extrato não foi tóxico neste modelo animal analisado, pois uma possível toxicidade sistêmica de determinada substância apresenta, em muitos casos uma redução no consumo de água e ração, alteração comportamental e má condição de pelagem (MELO, 2001; GONZÁLEZ e SILVA, 2003).

O ganho de peso obtido no grupo tratado com o extrato metanólico avaliado, foi semelhante com o grupo controle, evidenciando a não influência do extrato nesse parâmetro (Tabela 2 e Figura 1).

Parâmetros		Grupo A (DMSO 10%+PBS)	Grupo B (2000 mg/Kg)
Ganho de peso(g)	Inicial	43,56±1,85	46,23±1,50
	Final	45,33±2,40	48,4±2,53

Tabela 2. Média dos valores obtidos de ganho de peso de camundongos Swiss, machos avaliados durante 14 dias após administração de extrato metanólico e controle.

\*Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ).

O peso corporal dos camundongos, por exemplo, é um dos parâmetros utilizados para a avaliação tóxica, pois indica muitas vezes de forma mais rápida e efetiva, alterações tóxicas causadas por determinadas substâncias no organismo animal, sendo tal sinal importante para a avaliação da toxicidade de uma substância, pois fornece informações sobre o estado geral de saúde dos animais (VALADARES, 2006).

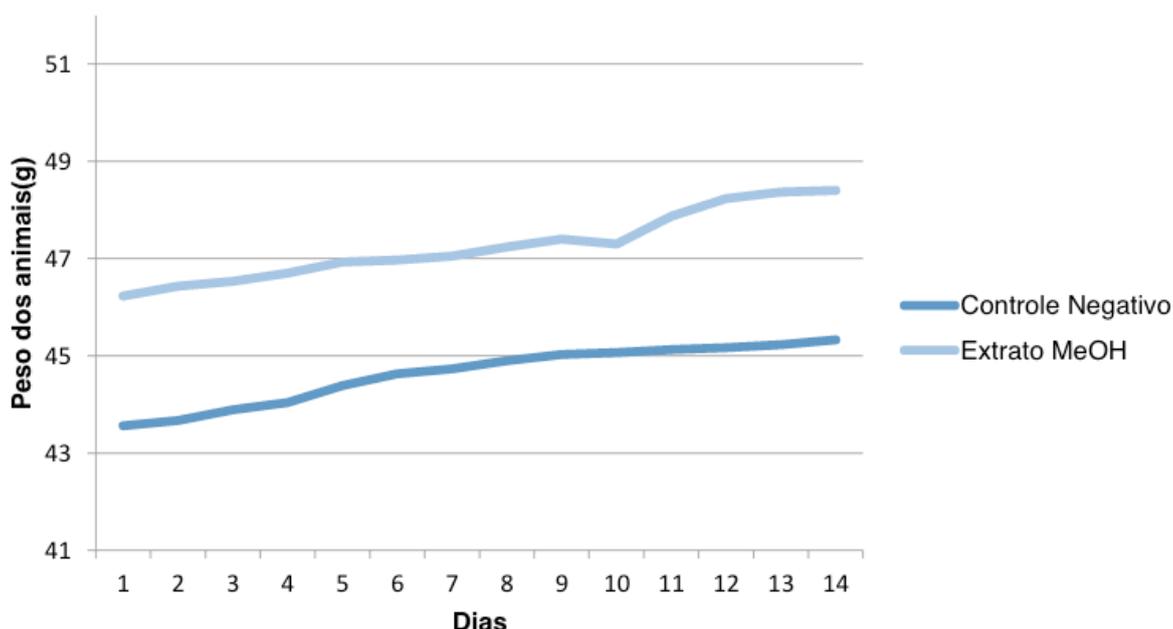


Figura 1. Evolução do peso (g) dos camundongos swiss, tratados com extrato metanólico de *Pityrocarpa moniliformis*.

Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. N = 3 animais. Teste "t" de Student  $p < 0,05$ .

## CONCLUSÕES

Pode-se concluir com os resultados obtidos que, o extrato metanólico de *P. moniliformis* na dose de até 2000 mg/kg não apresenta toxicidade sobre camundongos Swiss. Contudo, ensaios adicionais de toxicidade, devem ser realizados posteriormente, a fim de melhor elucidar os possíveis efeitos tóxicos desta espécie vegetal frente a modelos experimentais.

## REFERÊNCIAS

- BORGES, L. M. F., FERRI, P. H., SILVA, W. C., SILVA, W. J., MELO, L. S., SOUZA, L. A. D., SOARES, S. F., FARIA, K. A., GOMES, N. A., MORI, A. S., SILVA, N.F. Ação do Extrato Hexânico de Frutos Maduros de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em Bezerros Infestados Artificialmente. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, p.53-59, 2005.
- BORGES, L. M. F.; FERRI, P. H.; SILVA, W. J.; SILVA, W. C. In Vitro Efficacy of Extracts of *Melia azedarach* Against the Tick *Boophilus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v.17, p.228-231, 2003.
- DONATO, D. B.; FONSECA, A.G.; JÚNIOR, S.L.A. MACHADO, E.L.M. BISPO, D.F.A. Dano de *Caryedes* sp. (COLEOPTERA: BRUCHIDAE) e seus Reflexos na Propagação de *Enterolobium contortisiliquum* (LEGUMINOSAE). **Floresta e Ambiente**, v.17, n.2, p.118- 123, 2010.
- FIRMO, W. da C. A. MENEZES, V DE.J.M.; PASSOS, C.E de .C.; DIAS,C.N.; ALVES,L.P.L.; DIAS, I.C.L.; NETO, M.S.; OLEA, R.S.G.; Contexto Histórico, Uso Popular e Concepção Científica sobre Plantas Medicinais. **Cadernos de Pesquisas**, v. 18, n. especial, 2011.
- GIULIETTI, A. M.. NETA, A.L.B.; CASTRO, A.A.J.F.; GAMARRA-ROJAS, C.F.L.; SAMPAIO, E.V.S.B.; VIRGÍNIO, J.F.; QUEIROZ, L.P.; FIGUEIREDO, M.A.; RODAL, M.J.N.; BARBOSA, M.R.V.; HARLEY, R.M. **Diagnóstico da Vegetação Nativa do Bioma Caatinga**. In: SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. T.; LINS, L. V. (Org.). Biodiversidade da Caatinga: Áreas e Ações Prioritárias para a Conservação. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, p. 44, 2003.
- GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Clínica Animal**. Gráfica de Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p.198, 2003.
- HAYES, A. W. **Principles and Methods of Toxicology**. CRC Press, New York, p.1887.2001.
- LIMA, C.M.P.; SOARES, R.P.F.; BASTOS, I.V.G.A.; GRANGEIRO, A.R.S.; GURGEL, A.P.A.D.; SILVA, A.C.P.; SILVA, J.G.; OLIVEIRA, R.A.G.; SOUZA, I.A. Avaliação da Toxicidade Aguda do Extrato das Cascas de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.4, p.832-838, 2014.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, p.368; 2002.
- LOUREIRO, M. B.; CARVALHO, A.G.; ROSSETTO, C.A.V. Danos Causados por Insetos na Germinação e no Vigor de Sementes de *Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride. **Revista Agronomia**, v.38, n.1, p.105-109, 2004.
- MAIA, G. N. **Caatinga: Árvores e Arbustos e suas Utilidades**. 1. ed. São Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora, p.413, 2004.
- MELO, F. B. **Estudo dos Efeitos de *Lantana camara* (Verbenaceae) sobre a Fertilidade e Reprodução de Ratos**.2001.120f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- SILVA, M.F.S. **Estudo Químico e Avaliação da Atividade Antibacteriana de *Pityrocarpa moniliformis* (Benth) Luckon & R. W. Jobson (Fabaceae)**. 2013.148f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2013.
- SORG, O. **Oxidative Stress: a Theoretical Model or Biological Reality**. *Comptes Rendus Biologies.*, vol. 327, 649-662, 2004.

SOUSA, L. A. D.; PIRES, H. B.; SOARES, S. F.; FERRI, P. H.; RIBAS, P.; LIMA, E. M.; FURLONG, J.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; PERINOTTO, W. M. S.; BORGES, L. M. F. Potential Synergistic Effect of *Melia azedarach* Fruit Extract and *Beauveria bassiana* in the Control of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) in Cattle Infestations. **Veterinary Parasitology**, v. 175, p.320-324, 2011.

SOUZA, L. A. D., SOARES, S. F., PIRES, H. B., FERRI, P. H., BORGES, L. M. F. Avaliação da Eficácia de Extratos Oleosos de Frutos Verdes e Maduros de Cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 36-40, 2008.

TOMAZZONI, M.I; NEGRELLE, R.R. B; CENTA, M.L. Fitoterapia Popular: a Busca Instrumental enquanto Prática Terapêutica. **Texto Contexto Enfermagem**, n.15, v.1, p.115 -21, 2006.

TUROLLA, M.S.; NASCIMENTO, E.S. Informações Toxicológicas de alguns Fitoterápicos Utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 289-306, 2006.

VALADARES MC. Avaliação de Toxicidade Aguda: Estratégia após a “Era do Teste DL50”. **Revista Eletrônica de Farmácia**, n.3, v.2, p. 93-98, 2006.

## ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Moringa oleifera*: APLICAÇÕES NA SAÚDE E POTENCIAL TECNOLÓGICO

### **João Xavier da Silva Neto**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Ana Paula Apolinário da Silva**

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular  
Fortaleza – Ceará

### **João Paulo Apolinário da Silva**

Centro Universitário Unifanor Wyden

Engenharia de alimentos, Fortaleza-Ceará

### **Luciana Freitas Oliveira**

Centro Universitário Unifanor Wyden, Fortaleza-  
Ceará

### **Thiago Fernandes Martins**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular  
Fortaleza – Ceará

### **Luiz Francisco Wemmenson Gonçalves Moura**

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Guilherme Angelo Lobo**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Lucas Pinheiro Dias**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Bruno Bezerra da Silva**

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **José Ytalo Gomes da Silva**

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Ana Cláudia Marinho da Silva**

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Arnaldo Solheiro Bezerra**

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

**RESUMO:** Introdução: Nativa da Índia, *Moringa oleifera* é uma planta encontrada nos trópicos. Possui relevante valor nutricional, contendo vitaminas, proteínas, flavonoides, etc. Suas atividades farmacológicas (anti-inflamatória, hepatoprotetora, antimicrobiana) são bem conhecidas e estudadas. O objetivo deste trabalho foi demonstrar o potencial antibacteriano de *M. oleifera*, possível modo de ação e aplicações biotecnológicas das moléculas descobertas. Métodos: Foi realizado uma revisão bibliográfica de artigos publicados em periódicos internacionais disponíveis no

banco de dados ScienceDirect e Google Acadêmico. A pesquisa usou o período de tempo entre 2008 e 2019. Resultado e discussão: Os trabalhos observados mostraram que extratos das folhas e sementes (aquoso e estânico) inibiram o desenvolvimento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio, parahaemolycus*, *Salmonella enteridis* e *Aeromas caviae*. Já o extrato hidro-alcoólicas das sementes e folhas de *M. oleifera* e inibiram o crescimento de *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* e *S. aureus*, sendo atribuído isso as moléculas benzilamina, piterigosperma e benzil isotiocianato. Nanopartículas do extrato da casca do fruto de *M. oleifera* induzem aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, danificando o DNA e a membrana celular em *S. aureus* e *E. coli*. Por fim, a nanopartícula do óleo das sementes encapsulado em quitosana apresentou efeito contra *Listeria monocytogenes* e *S. aureus*. Considerações finais: O trabalho evidencia o potencial de *M. oleifera* como fonte de novos compostos antibacterianos visando alternativas aos fármacos atualmente utilizados e suas possíveis aplicações no mercado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Saúde. Farmacologia. Produtos naturais.

#### ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM *Moringa oleifera*: APPLICATIONS IN THE HEALTH AND TECHNOLOGICAL POTENTIAL

**ABSTRACT:** Introduction: Native to India, *Moringa oleifera* is a plant found in the tropics. It has relevant nutritional value, containing vitamins, proteins, flavonoids, etc. Its pharmacological activities (anti-inflammatory, hepatoprotectora, antimicrobial) are well known and studied. The aim of this work was to demonstrate the *M. oleifera* antibacterial potential, possible mode of action and biotechnological applications of the discovered molecules. Methods: A literature review of articles published in international journals available in the database ScienceDirect and Google Scholar was performed. The research used the time period between 2008 and 2019. Result and discussion: The observed works showed that leaf and seed extracts (aqueous and stannic) inhibited the development of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio, parahaemolycus*, *Salmonella enteridis* and *Aeromas caviae*. Already the hydroalcoholic extract of seeds and leaves of *M. oleifera* and inhibited the growth of *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* and *S. aureus*, being attributed to the molecules benzylamine, piterigosperma and benzyl isothiocyanate. Nanoparticles from *M. oleifera* peel extract induce increased production of reactive oxygen species, damaging DNA and cell membrane in *S. aureus* and *E. coli*. Finally, the chitosan encapsulated seed oil nanoparticle had an effect against *Listeria monocytogenes* and *S. aureus*. Final considerations: The work shows the potential of *M. oleifera* as a source of new antibacterial compounds aiming at alternatives to the currently used drugs and their possible applications in the market.

**KEYWORDS:** Health. Pharmacology. Natural products.

## INTRODUÇÃO

A planta *M. oleífera*, é originária do nordeste da Índia e possui ampla distribuição global, sendo encontrada principalmente em regiões de clima tropical e subtropical. Em conjunto com outras 13 espécies, é membro da família Moringaceae (**Figura 1**). Muitas partes dessa planta apresentam múltiplos usos, como alimento funcional e tratamento para diferentes distúrbios que acometem o ser humano (TSHABALALA *et al*, 2019). No contexto biotecnológico, as aplicações de *M. oleífera* abrangem o uso como controle biológico de insetos, produção de biocombustível e limpeza de água. Na indústria ela é bastante utilizada para fazer produtos como extrato em capsula, chá, óleo, sopa, xampu, creme facial, e suplemento alimentar (FAROOQ e KOUL, 2019). Além das propriedades já mencionadas, na literatura existem diversas atividades farmacológicas descritas para *M. oleífera*, como efeito anticancer, hipoglicêmico, antimalárial e antifúngico (FAROOQ e KOUL, 2019; LIN, *et al* 2019). Neste contexto, o referido trabalho teve como objetivo fazer uma revisão sobre a atividade antibacteriana de *M. oleífera* e aplicações biotecnológicas dessa propriedade.

## MÉTODO

Para a realização da revisão bibliográfica, foram pesquisados trabalhos científicos nos bancos de dados ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com>) e Google acadêmico (<https://scholar.google.com.br>) no período de 2008 a 2019. Foram excluídos todos os trabalhos que não estivessem publicados em periódicos internacionais e redigidos em língua inglesa. Também foram excluídos trabalhos de revisão, sendo utilizados apenas artigos de pesquisa original.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inúmeros trabalhos demonstram os diferentes efeitos medicinais e aplicações das partes de *M. oleífera*. Um dos efeitos mais estudados é o antimicrobiano, com destaque para a atividade contra bactérias. O extrato etanólico e aquoso das folhas conseguiu inibir *in vitro* o desenvolvimento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio, parahaemolycus*, *Salmonella enteridis* e *Aeromas caviae* na concentração de 11 mg/mL. Várias dessas bactérias avaliadas possuem importância clínica, e elas abrangem as Gram-positivas e negativas. (PEIXOTO, *et al*, 2011). Similarmente, FOROOQ e KOUL (2019) produziram extratos hidro-alcoólicos das sementes e folhas de *M. oleífera* e avaliaram seu efeito sobre células de *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* e *S. aureus*. Todas as concentrações avaliadas (25, 50, 75 e 100µg/mL) inibiram o

desenvolvimento de todas as bactérias. Essa atividade foi associada a presença dos compostos benzilamina, pterigosperma e benzil isotiocianato. Além das folhas e sementes, foi observado também efeito antibacteriano contra *B. subtilis*, *E. coli* e *S. aureus* nos extratos etanólico e aquoso das raízes de *M. oleífera*. Devido ao relevante efeito antibacteriano de *M. oleífera*, além da prospecção de moléculas naturais, alguns pesquisadores buscam melhorar esse efeito por meio da produção de nanopartículas. SURENDRA e ROOPAN (2016) preparam nanopartículas a partir do extrato da casca do fruto de *M. oleífera*. Essas nanopartículas foram capazes de inibir o desenvolvimento *S. aureus* e *E. coli*. Os autores hipotetizaram que a nanopartícula induz aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, danificando o DNA e a membrana celular, levando a bactéria a morte (**Figura 2**). Recentemente, o óleo das sementes de *M. oleífera* foi encapsulado em nanopartículas de quitosana e usado para produzir uma embalagem (**Figura 3**) com efeito antibacteriano contra *Listeria monocytogenes* e *S. aureus*. Essa embalagem apresentou potente efeito antibacteriano nas concentrações de 10 mg/mL, degradando, desestabilizando a parede celular da bactéria (**Figura 4**). Esses resultados ressaltam ainda mais a importância de *M. oleífera* como fonte de moléculas multifuncionais, além da importância da pesquisa básica voltada a fontes vegetais.

## CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstra a importância da planta *M. oleífera* como uma fonte de moléculas bioativas contra bactérias patogênicas ao ser humano e de importância comercial. Além da prospecção e purificação de novas moléculas, merece destaque, a gama de aplicações que estas moléculas apresentam, como a produção de nanopartículas e utilização na indústria alimentícia.



Figura 1. *Moringa oleifera* e suas partes constituintes. A) Árvore de *M. oleifera*. B) Folhas e frutos maduros. C) Flores. D) Sementes maduras. E) Amêndoas de sementes.

Fonte: Próprio autor.

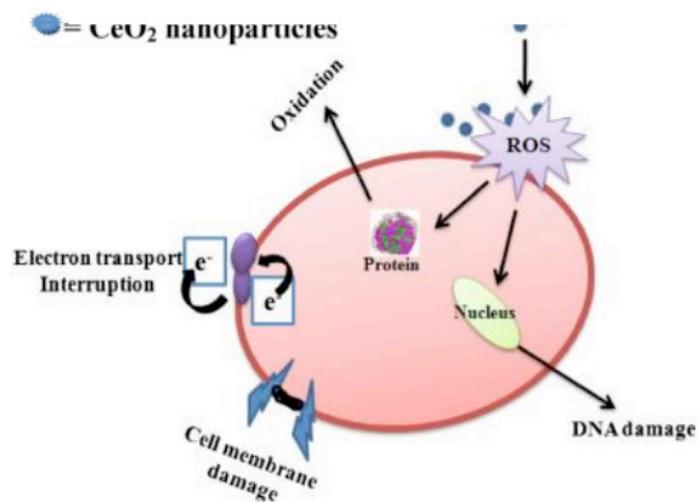


Figura 2. Modo de ação da nanopartícula produzidas do extrato da casca de *M. oleifera*. (SURENDRA e ROOPAN, 2016)

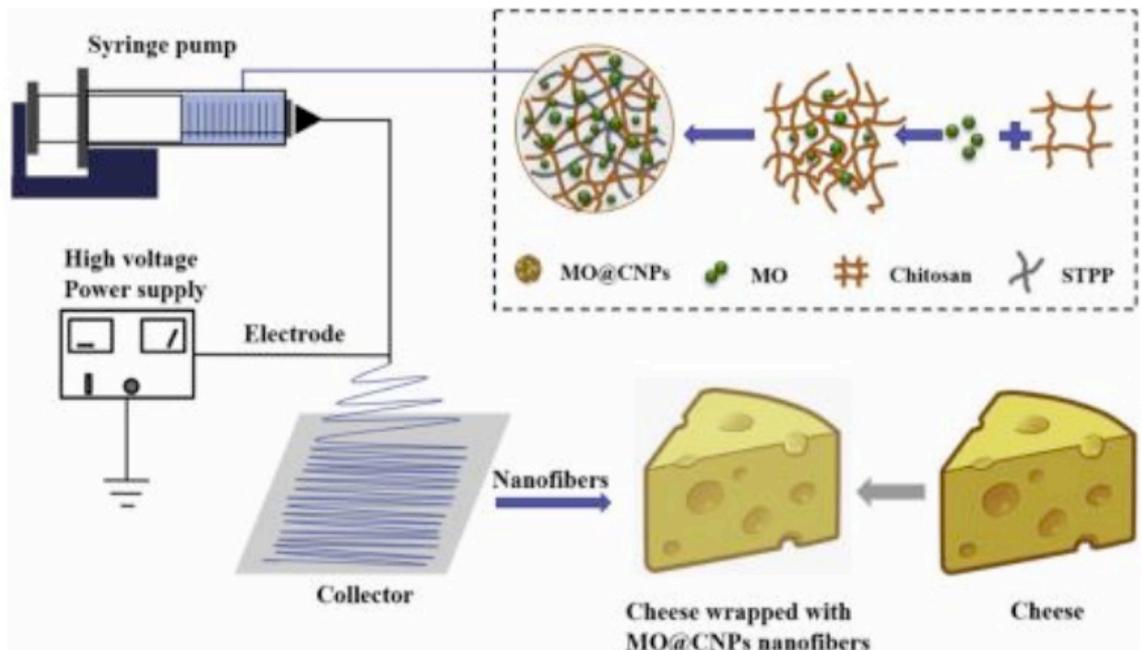


Figura 3. Produção da embalagem da embalagem com nanopartícula de óleo de *M oleifera* e quitosana  
(LINet al, 2019)

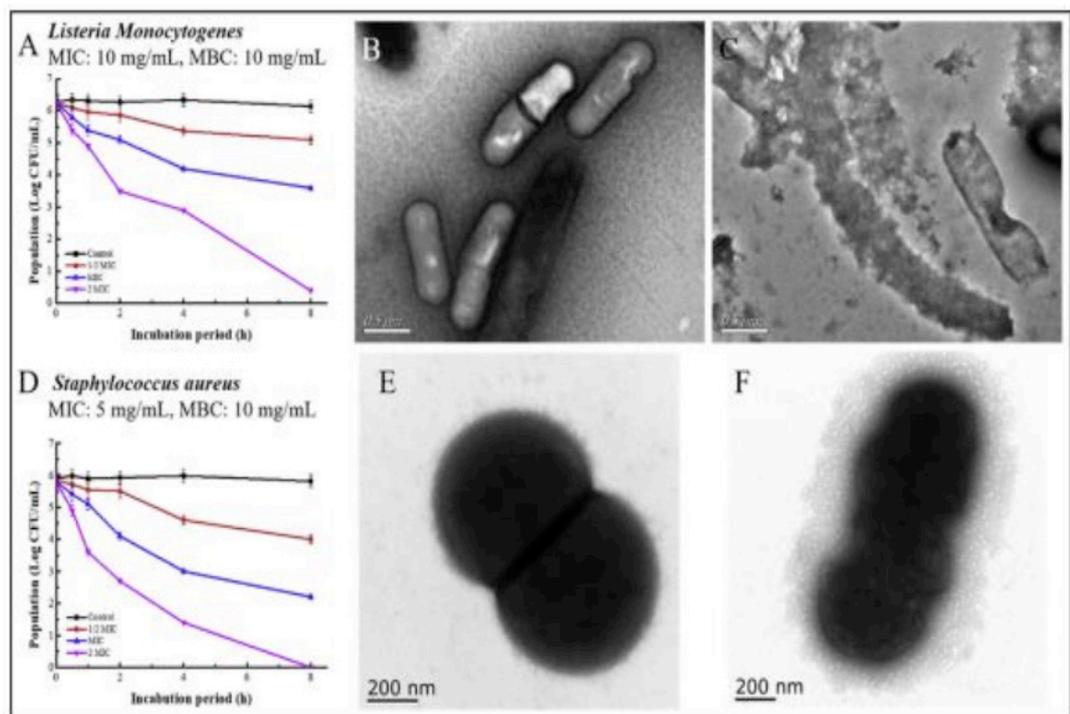


Figura 4. Atividade antibacteriana da embalagem com nanopartícula de óleo de *M oleifera* equitosana. A-B-C) Efeito sobre *L. monocytogenes*. D-E-F) Efeito sobre *S. aureus*.  
(LINet al, 2019)

## REFERÊNCIAS

Farooq, B e 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. 10, 1-9, 2019.

Lin, L. *et al.* **Moringa oil/chitosan nanoparticles embedded gelatin nanofibers for food packaging against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* on cheese.** Food Packaging and Shelf Life. V 19, 86–93, 2019.

Tshabalala, T. *et al.* **Potential substitution of the root with the leaf in the use of *Moringa oleifera* for antimicrobial, antidiabetic and antioxidant properties.** South African Journal of Botany. V. 12, 1-7, 2019.

Surendra, T. V. *et al.* **Photocatalytic and antibacterial properties of phytosynthesized CeO<sub>2</sub> NPs using *Moringa oleifera* peel extract.** Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology. V. 161, 122–128, 2016.

Peixoto, J. R. O. *et al.* ***In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts.** Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. V. 2, 201-204, 2011.

## AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN VIVO* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS SOBRE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

### **Amanda Pohlmann Bonfim**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

### **Andressa Gimenes Braga**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Medicina  
Maringá, Paraná

### **Karina Mayumi Sakita**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

### **Daniella Renata Faria**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

### **Glaucia Sayuri Arita**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

### **Franciele Abigail Vilugron Rodrigues Vendramini**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

### **Isis Regina Grenier Capoci**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

### **Marcos Luciano Bruschi**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia

Maringá, Paraná

### **Érika Seki Kioshima**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

### **Patrícia de Souza Bonfim-Mendonça**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

### **Terezinha Inez Estivalet Svidzinski**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina  
Maringá, Paraná

**RESUMO:** A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma vaginite comum que afeta mulheres especialmente em idade fértil. *Candida albicans* é a levedura responsável por quase 80% dos casos, porém outras espécies, como *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, também podem causar CVV. Essas etiologias têm aumentado e com isso, também o perfil de resistência aos antifúngicos convencionais. Atualmente, os protocolos de tratamento da CVV baseiam-se na classificação clínica em CVV complicada e CVV não-complicada, que estratifica a infecção de acordo com a intensidade e frequência das manifestações clínicas, bem como as espécies envolvidas. Na terapêutica, considerando o limitado arsenal de fármacos disponível e o

crescente perfil de resistência fúngica, a busca por novas fontes terapêuticas, com baixa toxicidade e fácil administração, deve ser motivada. O extrato de própolis (PRPe) tem sido utilizado em diversos tratamentos, considerando sua composição e propriedades farmacológicas que permitem uma ampla aplicabilidade, inclusive como agente antifúngico. Este estudo relata uma experiência *in vitro* e *in vivo* da utilização do PRPe. *In vitro*, os isolados clínicos de *C. albicans* e *C. glabrata* foram sensíveis a atividade antifúngica do PRPe. Adicionalmente, o estudo *in vivo*, com modelo murino de CVV por *C. albicans*, mostrou uma expressiva redução da carga fúngica e uma reorganização epitelial nos animais tratados com própolis, comparado ao controle. Esses resultados atestam a oportunidade promissora do PRPe no tratamento da CVV e representam um incentivo ao desenvolvimento de pesquisas de fase clínica.

**PALAVRAS-CHAVE:** própolis; candidíase experimental; antifúngico.

## IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION ON THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF PROPOLIS EXTRACTIVE SOLUTION ON VULVOVAGINAL CANDIDIASIS

**ABSTRACT:** Vulvovaginal candidiasis (VVC) is a common vaginitis that affects women, especially at childbearing age. *Candida albicans* is responsible for almost 80% of cases, but other species such as *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. parapsilosis* may also cause VVC. These etiologies have increased and also the resistance profile to conventional antifungals. Currently, VVC treatment protocols are based on the clinical classification into complicated and uncomplicated VVC, which stratifies the infection according to the intensity and frequency of clinical signs, as well as the species involved. In therapy, considering the limited arsenal of drugs available and the growing fungal resistance profile, the search for new therapeutic sources with low toxicity and easy administration should be motivated. The propolis extractive solution (PRPe) has been used in several treatments, considering its composition and pharmacological properties that allow a wide applicability, including as an antifungal agent. In this study, were reported an *in vitro* experiment of PRPe against clinical isolates of *C. albicans* and *C. glabrata* which an expressive PRPe antifungal activity. An *in vivo* study has been also performed with a murine model of VVC by *C. albicans*, which showed a significant reduction in fungal burden and an epithelial reorganization in the propolis-treated animals, compared to control. These results attest to the promising opportunity of PRPe in the VVC treatment and represent an incentive for the development of clinical phase research.

**KEYWORDS:** propolis; experimental candidiasis; antifungal.

## 1 | INTRODUÇÃO

### Candidíase Vulvovaginal

Candidíase vulvovaginal (CVV) é um importante problema de saúde pública

mundial. É caracterizada por uma série de sinais (eritema e edema vulvar, fissuras, escoriações e leucorréia vaginal espessa) e sintomas (prurido vulvar, ardência, vermelhidão, inchaço, dispareunia, disúria externa), não necessariamente manifestados todos ao mesmo tempo. CVV afeta um grande número de mulheres saudáveis em idade fértil, resultando em sintomas que geram desconforto genital, prejuízos nas relações sexuais e afetivas, além de reduzir a qualidade de vida e prejudicar o desempenho laboral. Como consequência, estima-se que só nos EUA, os gastos com mulheres afetadas pela CVV são de aproximadamente \$1 bilhão/ano. No Brasil, bem como nos EUA, a CVV é a segunda causa de infecção vaginal, sendo precedida somente pela vaginose bacteriana. Mas na Europa, CVV é a principal causa de infecções vaginais. Situações em que a mesma mulher manifesta três ou mais episódios de CVV no período de um ano são considerados CVVR, candidíase vulvovaginal recorrente (Sobel, 2007; Sobel, 2014; Sobel, 2016).

Atualmente, é muito difícil avaliar a real prevalência da CVV na população, mas estima-se que seja muito superior aos números publicados, pois além de não ser agravo de notificação compulsória, há o fato de *Candida* spp. estar presente no trato genital de aproximadamente 20% das mulheres saudáveis, sem caracterizar uma CVV. Além disso, a automedicação indiscriminada, com o uso das drogas *over-the-counter* que estão facilmente disponíveis para compra, sem prescrição médica, contribui para subestimar os dados epidemiológicos de CVV (Pappas et al., 2016).

### **Etiologia da CVV**

*Candida albicans* é o principal patógeno responsável pelas infecções de CVV, representando por 60-80% dos casos, especialmente aqueles de CVV não-complicada (Kennedy et al., 2010). A segunda espécie mais comumente relacionada à CVV é *C. glabrata*, seguido das espécies *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. inconspícua*, sendo conhecidas como espécies *Candida* não-*C. albicans* (Colombo et al., 2013).

### **Classificação da CVV**

O *Center of Disease Control* (Pappas et al., 2016) classifica a CVV, clinicamente, em CVV não-complicada e CVV complicada (Tabela 1). A CVV não-complicada inclui os casos esporádicos de CVV, com sintomas leves a moderados, causados pela espécie *C. albicans*, em mulheres imunocompetentes. A CVV complicada, diagnosticada em 10 a 20% dos casos, é representada pelos casos de CVV com sintomatologia mais severa, CVVR, infecções causadas pelas espécies *Candida* não-*C. albicans* ou aqueles que ocorrem em mulheres imunocomprometidas (p. ex. diabéticas, usuárias de corticosterapia ou terapia imunossupressora, infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana).

CVV Não-complicada (todos os critérios)	CVV Complicada (pelo menos um dos critérios)
CVV esporádica / infrequente	CVV recorrente
CVV com sintomas leves / moderados	CVV com sintomas severos
Infecção por <i>Candida albicans</i>	Infecção por espécies de <i>Candida</i> não-albicans
Mulheres imunocompetentes	Mulheres imunocomprometidas ou em uso de terapias imunossupressoras

Tabela 1 – Classificação Clínica da Candidíase Vulvovaginal (CVV) segundo *Center for Disease Control and Prevention* (2015)

Fonte: Pappas, 2016

## Fisiopatologia da CVV

Muitos fatores podem influenciar no processo infeccioso por essas leveduras que frequentam naturalmente o ambiente vaginal. Destaca-se a presença do estrogênio; o comensalismo, ou seja, a presença das leveduras no local sem causar doença; condições imunológicas da mulher, bem como as características bioquímicas e microbiológicas da levedura no ambiente vaginal (Mtibaa et al., 2017). A CVV é uma infecção comum na fase puberal e rara nas fases pré-púbere e pós-menopausa, exceto em casos sob terapia de reposição hormonal uma vez que os estrogênios atuam de modo multifatorial com destaque para as modificações diretas no epitélio e na composição vaginal da hospedeira, permitindo a infecção por *Candida* spp. Além disso, estão envolvidos fatores ligados diretamente ao patógeno, conhecidos como potencial de virulência (Silva et al. 2012). Nesse contexto, é sabido que a CVV ocorre naturalmente, de modo mais frequente e com sintomas mais severos, na fase lútea do ciclo ovulatório devido aos picos de estrogênio e progesterona que ocorrem nessa fase.

A microbiota vaginal exerce um papel importante na manutenção da saúde vaginal e confere um efeito protetor contra a CVV através de mecanismos ainda não muito bem esclarecidos. Ademais, o pH vaginal ácido, graças à produção de ácido lático pelos *Lactobacillus* spp., também possui um forte efeito protetor para o ambiente vaginal contra infecções oportunistas (Gonçalves et al. 2016).

Acredita-se que a CVVR esteja relacionada diretamente com os estados adquiridos de depressão imunológica da mucosa vaginal normal, associados aos polimorfismos genéticos predisponentes à doença, o que permitiria uma redução do limiar de tolerância da mucosa ao micro-organismo quando comparadas a mulheres não propensas à CVV. Entretanto, há ainda outros fatores envolvidos na etiopatogenia e no tratamento da CVV que ainda não estão elucidados (Mtibaa et al., 2017; Gonçalves et al. 2016).

Nesse contexto, é importante identificar e reconhecer minimamente os fatores

de risco associados a CVV que predispõe as pacientes à recorrência. Dentre os fatores de risco mais conhecidos estão: alta frequência de relações sexuais, recepção de sexo oral, uso de *condom* e espermicidas, uso de anticoncepcionais hormonais combinados com altas doses de estrogênio, gestação, uso de antibióticos e imunossuppressores, diabetes mellitus descompensada, estresse, obesidade e a própria predisposição genética (Achkar et al., 2010; Sobel, 2017).

*Candida* spp. é dotada de importantes fatores que são responsáveis pela sua alta virulência, dificultam a resposta imunológica do paciente e adicionalmente prejudicam a ação fungicida do antifúngico no tratamento. Dentre esses fatores de virulência pode-se citar: filamentação, capacidade de aderir a células do hospedeiro e a dispositivos médicos, e a consequente formação de biofilme sobre essas superfícies. Em conjunto, esses fatores podem ser responsáveis pela permanência prolongada desse agente no ambiente vaginal.

### Diagnóstico da CVV

O diagnóstico da CVV é sugerido na presença de dois ou mais sinais ou sintomas pela paciente associado à presença de leveduras, hifas ou pseudo-hifas na avaliação à fresco (solução salina, 10% KOH) e coloração de Gram da secreção vaginal (Pappas et al. 2016). Porém, devido à baixa especificidade dos achados clínicos, uma vez que também podem se manifestar em outras infecções vaginais (vaginose bacteriana, tricomoníase e gonorreia), a cultura para identificação da espécie da levedura infectante ganha espaço relevante no diagnóstico para direcionar o tratamento adequado, além de predizer o risco de recorrência da doença (Sobel 2016).

Segundo orientações do CDC, o uso de KOH a 10% em exames a fresco facilita a visualização de leveduras e micélios ao romper material celular que possa sobrepor as leveduras ou pseudo-hifas. Por isso, esse exame deve ser realizado em todas as mulheres que apresentem sinais e sintomas de CVV. Aquelas que tiverem resultado positivo, devem ser tratadas; aquelas que tiverem resultado negativo, a cultura vaginal deve ser considerada. Se a cultura de *Candida* spp. não puder ser realizada, o tratamento empírico deve ser considerado nos casos de CVV não-complicada (Pappas et al. 2016).

Nos casos de CVV complicada, a cultura é de extrema importância, tanto no diagnóstico como na identificação de espécies atípicas, incluindo as espécies como *C. glabrata* que não forma hifas ou pseudo-hifas e, por esse motivo, tem sua identificação prejudicada no exame à fresco da secreção vaginal. Mulheres que, por ventura, apresentem culturas vaginais positivas para *Candida* spp., na ausência de manifestações clínicas, não devem ser tratadas, visto que até 20% das mulheres são colonizadas pelo fungo e se mantêm assintomáticas (Pappas et al. 2016).

Por fim, o controle de cura só está indicado após tratamento de infecções

persistentes por *Candida* não-*C. albicans* com pelo menos duas culturas negativas uma semana e duas semanas após o tratamento (Febrasgo, 2010).

## Tratamento da CVV

O tratamento da CVV depende de diversos fatores (história clínica atual e pregressa da paciente, classificação clínica da CVV, exame físico e resultados laboratoriais) e, por isso, deve ser individualizado. De modo geral, as drogas antifúngicas disponíveis no mercado podem ser divididas em poucas classes farmacológicas, conforme seu mecanismo de ação (Tabela 2), sendo que uma grande parte delas pode ser aplicada na terapêutica da CVV (Silva, 2010).

Grupos	Poliênicos	Imidazólicos	Triazólicos	Equinocandinas	Outros
Fármacos	nistatina anfotericina B	miconazol butoconazol clotrimazol cetoconazol fenticonazol tioconazol	fluconazol itraconazol terconazol voriconazol	casposfungina micafungina	flucitosina ácido bórico

Tabela 2 – Classificação farmacológica dos antifúngicos

Fonte: Silva, 2010

Nesse contexto, a CVV não-complicada pode ser tratada, de forma eficaz, com formulações de curta duração, isto é, dose única ou regimes de 1 a 3 dias (Tabela 3), sendo que os azólicos aplicados topicamente resultam em rápido alívio dos sintomas e culturas negativas em 80-90% das pacientes que finalizam a terapia (Pappas et al. 2016). Já os protocolos nacionais trazem a nistatina como droga de primeira escolha no tratamento da CVV não-complicada e, também na CVV complicada causada por espécies *Candida* não-*C. albicans*, como opção eficaz e de baixa toxicidade podendo ser utilizada com segurança em grupos especiais como gestantes, crianças e idosos (Febrasgo, 2010).

Contudo, apesar de os derivados azólicos serem medicações bem toleradas, estão frequentemente associados a reações locais adversas (irritação, vermelhidão, ardor e prurido) e efeitos sistêmicos já descritos. Essas reações adversas podem ser motivo de baixa aderência ao tratamento e descontinuação do uso do medicamento, além de confundir os parâmetros de controle de cura clínica e limitar o sucesso do tratamento.

Nos casos de CVV complicada, os episódios isolados de infecção respondem bem às terapias de curta duração com azólicos tópicos ou orais, porém, para manter o controle clínico e micológico, recomenda-se o tratamento estendido da droga de escolha inicial por 7 a 14 dias, ou dose única de fluconazol (100, 150 ou 200mg) a cada 3 dias em um total de 3 doses (Pappas et al. 2016). Em associação, nos casos

de CVVR, o tratamento de manutenção semanal com fluconazol oral (100, 150 ou 200mg) ou clotrimazol 500mg vaginal é recomendado, por pelo menos seis meses, com 40-50% de sucesso em manter a cura clínica e laboratorial por até um ano após o término do tratamento. Na gravidez e lactação, uma vez que os azólicos orais são contra indicados (Classe C), em casos de recorrência, pode-se utilizar clotrimazol 500 mg a cada 1 a 2 semanas para melhor controle dos sintomas (Febrasgo, 2010). Adicionalmente, os casos de CVV com clínica severa estão associados a pior resposta quando utilizados tratamentos orais ou tópicos de curta duração, sendo recomendado um regime estendido com azólicos tópicos por até 14 dias ou duas doses sequenciais de fluconazol (150mg) com intervalo de 3 dias (Pappas et al. 2016).

Nos casos de CVV por espécies *Candida* não-*C. albicans* é importante excluir outras causas para os sintomas apresentados pela paciente antes de estabelecer o plano terapêutico, uma vez que 50% das infecções por essas espécies apresentam mínimos ou nenhum sintoma, e a cultura positiva não deve ser fator exclusivo determinante no planejamento do tratamento (Kennedy et al., 2010). Ainda não há um tratamento padrão para as infecções vaginais por espécies *Candida* não-*C. albicans*, os protocolos ainda incluem como primeira escolha os regimes estendidos (7-14 dias) de azólicos não-fluconazol orais ou tópicos, apesar da crescente resistência dessas espécies a esse grupo antifúngico.

Medicamento	Concentração	Posologia	Período de tratamento
nistatina (creme)	100.000UI	4g, 1 vez ao dia, intravaginal	14 dias
clotrimazol (creme)	1%	5g, 1 vez ao dia, intravaginal	7-14 dias
clotrimazol (creme)	2%	5g, 1 vez ao dia, intravaginal	3 dias
miconazol (creme)	2%	5g, 1 vez ao dia, intravaginal	7 dias
miconazol (creme)	4%	5g, 1 vez ao dia, intravaginal	3 dias
butoconazol (creme)	2%	5g, 1 vez ao dia, intravaginal	dose única
terconazol (creme)	0.4%	5g, 1 vez ao dia, intravaginal	7 dias
terconazol (creme)	0.8%	5g, 1 vez ao dia, intravaginal	3 dias
fluconazol (comprimido)	150mg	1cp, 1 vez ao dia	dose única

Tabela 3 – Esquemas terapêuticos recomendados no tratamento da CVV não-complicada  
Center for Disease Control and Prevention (2015)

Fonte: Febrasgo, 2010, Pappas, 2016

Se houver recorrência, pode se utilizar ácido bórico 600mg em cápsulas gelatinosas via vaginal, diariamente, por 2 semanas, com taxa de cura de até 70% , ou com um custo mais elevado, a opção da flucitosina 17% sozinha ou associada à anfotericina B 3% tópica diária, por 14 dias consecutivos (Febrasgo, 2010; Sobel 2016)

Por fim, o tratamento do parceiro sexual não se faz necessário em nenhuma das situações já mencionadas, por falta de evidências que suportem melhores resultados com essa conduta, exceto nos casos em que haja clínica própria de

balanite (eritema, prurido e irritação na região da glândula peniana), quando há então benefício no tratamento tópico para alívio dos sintomas masculinos (Febrasgo, 2010; Pappas et al. 2016).

## 2 | NOVAS TERAPIAS ANTIFÚNGICAS

No contexto da inovação terapêutica, os compostos naturais possuem papel relevante como fonte de novas drogas com boa atividade antimicrobiana e baixo efeito citotóxico. Nas últimas 3 décadas, 49% dos quimioterápicos aprovados pelo *Food and Drug Administration - FDA* derivam diretamente de produtos naturais (Newman et al., 2016). A indústria farmacêutica tem demonstrado muito interesse na descoberta de novas moléculas derivadas e compostos naturais com efetividade isolada ou em associação com outras drogas já conhecidas para otimizar diversos tratamentos. Além disso, os compostos naturais têm se mostrado como alternativas terapêuticas interessantes, graças a múltiplas atividades biológicas, baixa toxicidade e poucos efeitos colaterais.

### Própolis

Própolis é um material resinoso, fortemente adesivo, produzido principalmente por abelhas *Apis mellifera* L., a partir da coleta de brotos e exsudatos de plantas, misturados com enzimas, pólen e cera (Burdock et al., 1998). Dentre muitas utilidades, a própolis é utilizada pelas abelhas para preservar sua sociedade contra diversas doenças, como infecções fúngicas e bacterianas, graças às propriedades antimicrobianas atribuídas à própolis.

Registros bibliográficos mostram o uso terapêutico da própolis desde a antiguidade por egípcios, persas e romanos. Como um composto natural, tem sido usada como um remédio tradicional para tratar diversas doenças devido suas características biológicas e farmacológicas, com múltiplas atividades terapêuticas já demonstradas, dentre elas antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora, antioxidante, reparadora tecidual, citostática e antitumoral com resultados positivos e inovadores no tratamento da CVV (Oryan et al., 2018; Capoci et al., 2015; Longhini et al., 2007; Castaldo et al., 2002). Além disso, seu baixo efeito citotóxico foi reportado por alguns autores, assegurando seu uso e aplicação clínica (Capoci et al., 2015).

Os efeitos antifúngicos *in vitro* da própolis já foram demonstrados em diversos estudos prévios, incluindo várias espécies de fungos (Veiga et al., 2018; Capoci et al. 2015), comprovando sua ação tanto fungistática quanto fungicida. Além disso, nosso grupo também tem experiência com o uso do extrato de própolis no tratamento clínico da onicomicose (Veiga et al. 2018), com resultados promissores já que comprova a atividade antifúngica aliada à baixa toxicidade, reportada por Capoci et al. 2015. Entretanto, pesquisas envolvendo a aplicação clínica visando a terapêutica vaginal,

ainda são incipientes. Em princípio, própolis tem um grande potencial para uso no tratamento da candidíase, tendo em vista os efeitos cumulativos, como antifúngico, anti-inflamatório, diminuindo sintomas importantes da CVV, como edema e prurido. Adicionalmente, suas propriedades na regeneração de tecidos, aliadas a ausência de citotoxicidade, credenciam a própolis como promissor novo fármaco no combate à CVV. Assim, o extrato de própolis é uma importante alternativa terapêutica do ponto de vista econômico e de eficácia farmacológica. Contudo, são raros os estudos realizados com esse fim em animais de laboratório.

Baseados neste panorama, desenvolvemos um estudo visando avaliar a atividade antifúngica de uma formulação farmacêutica contendo própolis (extrato alcoólico) já recomendado pela ANVISA RDC nº97 (1º de Agosto de 2016, Art.33) para uso na cavidade bucal, como anti-inflamatório, antisséptico e cicatrizante. O extrato de própolis (PRPe) foi testado *in vitro* sobre leveduras vaginais e *in vivo* em CVV experimental causada por *C. albicans*, em camundongos Balb/C. PRPe é uma complexa mistura constituída por 47% de resina contendo vitaminas, sais minerais, compostos fenólicos como flavonóides, ácidos graxos, álcoois aromáticos e ésteres; 30% de ceras; 5% de pólen, 4-15% de substâncias voláteis e matérias estranhas; e 13% de substâncias desconhecidas. Entre estes componentes, os polifenóis (flavonoides) estão presentes em altas concentrações, os quais têm sido identificados como sendo responsáveis pelas principais atividades farmacológicas deste composto.

Para esse estudo, inicialmente foram realizados testes *in vitro* de acordo com o documento M27-A3 do *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI), modificado para produtos naturais (Capoci et al. 2015). PRPe foi testado nas concentrações de 5,2 a 2680  $\mu\text{g/mL}$  de polifenóis totais sobre isolados clínicos CVV (Comitê de ética e pesquisa com seres humanos (COPEP) CAAE nº 02200093000-09 reporte nº 435/2009). Foram utilizadas 104 leveduras do gênero *Candida*, sendo 56 leveduras da espécie *C. albicans* e 48 da espécie *C. glabrata*. A Figura 1 mostra de forma representativa a determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) de própolis frente às duas espécies de levedura. *C. albicans* mostrou maior sensibilidade a atividade antifúngica do PRPe em relação à espécie *C. glabrata*. A concentração de 167  $\mu\text{g/mL}$  de polifenóis totais foi capaz de eliminar a maioria (59%; n=33) dos isolados clínicos da espécie *C. albicans*. Por outro lado, 69% (n=33) dos isolados clínicos da espécie *C. glabrata*, foram sensíveis a atividade antifúngica na concentração de 335  $\mu\text{g/mL}$  de polifenóis totais.

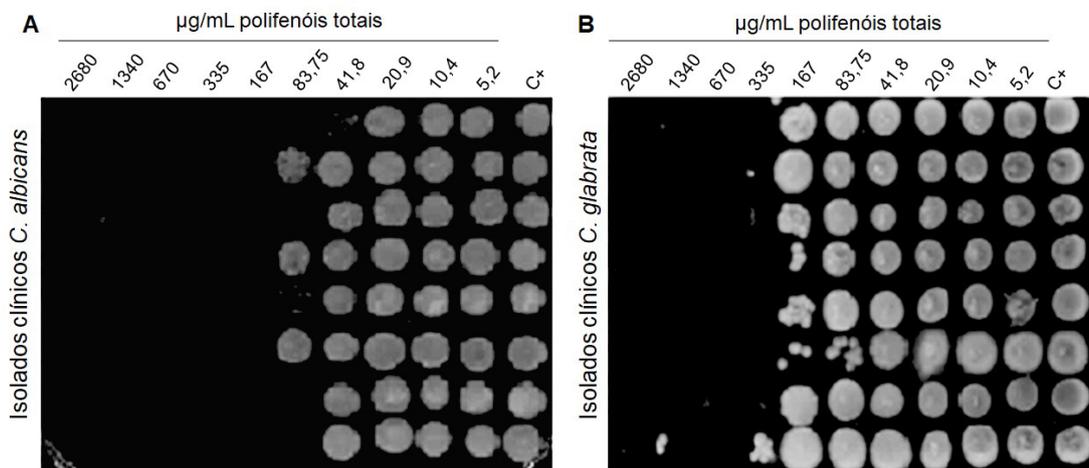


Figura 1: Imagem representativa da determinação da concentração fungicida mínima (CFM) do extrato de própolis (PRPe) sobre leveduras isoladas de pacientes com candidíase vulvovaginal. A concentração do extrato de própolis variou de 5,2 a 2680  $\mu\text{g/mL}$  de polifenóis totais. A) Representação da CFM do extrato de própolis para os isolados clínicos de *C. albicans*. B) Representação da CFM do extrato de própolis para os isolados clínicos de *C. glabrata*. Controle Positivo= C+ (leveduras em meio de cultura sem própolis). CFM corresponde à menor concentração de PRPe capaz de impedir o crescimento das leveduras.

Os resultados *in vitro* foram encorajadores para a realização do estudo experimental, em animais de laboratório. Assim, as propriedades antifúngicas do PRPe foram avaliadas em camundongos BALB/C fêmeas (n=24) com 4 a 5 semanas de idade e peso médio de 22 gramas. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em animais CEUA, da Universidade Estadual de Maringá sob parecer nº 4717180616. Os animais foram divididos em três grupos com oito animais cada, sendo: grupo controle (sem tratamento), grupo tratado com PRPe (214  $\mu\text{g/mL}$  de polifenóis totais) e grupo tratado com droga comercial, miconazol creme (20mg/g). Após comprovação que o modelo infeccioso tinha sido estabelecido e estabilizado, os animais foram tratados 2x/dia por 7 dias. Para este ensaio, foi escolhida uma concentração mediana do PRPe a partir da atividade antifúngica *in vitro*. A Figura 2 mostra redução expressiva na carga fúngica após o tratamento da CVV experimental com PRPe quando comparado com o grupo controle. Observamos que a atividade antifúngica foi significativa após sete dias de tratamento com redução da carga fúngica aproximada de 2 logs,  $p < 0.05$ , o que representa uma redução da viabilidade fúngica de aproximadamente 100x. Estes resultados foram semelhantes aqueles obtidos com a droga de referência.

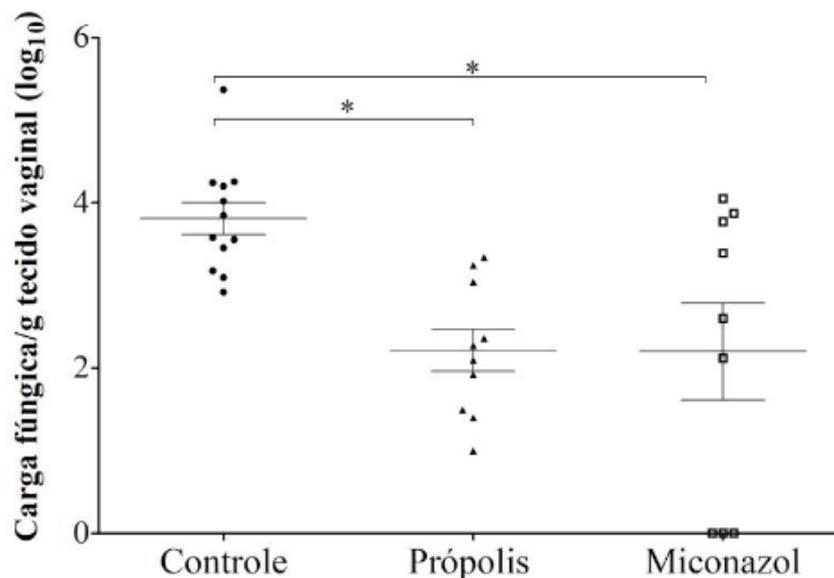


Figura 2. Atividade antifúngica in vivo do extrato de própolis (PRPe) em modelo de candidíase vulvovaginal experimental. A) Camundongos fêmeas com candidíase vulvovaginal (n=8) sem tratamento (controle), tratados (n=8) durante 7 dias com o PRPe (30 $\mu$ L, 214  $\mu$ g/mL de teor total de fenol contido em ácido gálico) e tratados (n=8) durante 7 dias com miconazol (30 $\mu$ L, 20mg/g creme). \* $p$ <0.05, de acordo com o *Student's t-test*, realizado pelo programa *GraphPad Prism* versão 6.0.

Após sete dias de tratamento, foi retirado cirurgicamente o tecido vaginal dos animais avaliados. Cortes histológicos foram realizados com posterior coloração por *Grocott-Gomori's methenamine silver* (GMS) e contra-corados com *haematoxylin and eosin* (H&E). Após análise de no mínimo 20 campos microscópicos, foi possível comprovar a eficiente atividade antifúngica do PRPe com importante redução da carga fúngica no tecido vaginal (Figura 3A) e reconstituição da camada córnea com estabelecimento da integridade da mucosa vaginal, como observado na figura 3B.

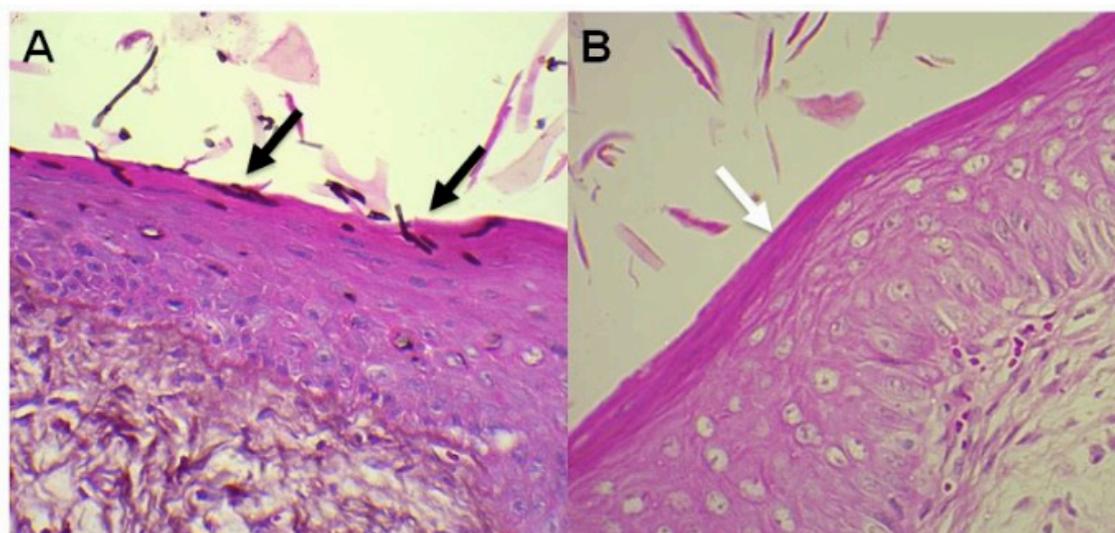


Figura 3. Análise histopatológica da mucosa vaginal de animais Balb/c infectados intravaginalmente com *Candida albicans* e tratados com extrato de própolis (PRPe). (A) Grupo controle: animais infectados intravaginalmente com *C. albicans* e sem tratamento (20x). (B) Grupo tratamento: animais infectados intravaginalmente com *C. albicans* e tratados 2x/dia

durante 7 dias (20x). Setas pretas indicam a presença de pseudo-hifas de *Candida albicans* no extrato córneo da mucosa vaginal. Setas brancas indicam o extrato córneo da mucosa vaginal reconstituído e com a ausência de leveduras após o tratamento com o PRPe. Cortes histológicos corados por *Grocott-Gomori's methenamine silver* (GMS) e contra-corados com *haematoxylin and eosin* (H&E).

### 3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista os desafios encontrados em relação à abordagem terapêutica da CVV, o extrato de própolis, já aceito e disponível no mercado para tratamento de infecções tegumentares, tem potencial para ser empregado também no tratamento de infecções de mucosas, mais especificamente a CVV. Neste estudo, o extrato de própolis mostrou eficiente atividade antifúngica *in vitro*, corroborando com estudos prévios a este e, também de outros grupos. Além disso, apresentou resultados satisfatórios no tratamento *in vivo*, em animais infectados experimentalmente com *C. albicans*, sendo esta a espécie de levedura mais frequente em CVV, configurando uma alternativa eficiente para tratamento da CVV em humanos. Importante destacar que o estudo histopatológico mostra não apenas o desaparecimento dos fungos no tecido da mucosa vaginal como também a reconstituição do epitélio, provavelmente devido à ação somatória das propriedades antifúngicas e cicatrizantes da própolis. Além disso, é importante destacar a ausência de citotoxicidade da própolis evidenciada em estudos prévios. Esses resultados credenciam a utilização dessa formulação em estudos de fase clínica, envolvendo mulheres com casos reais de CVV randomizadas e, posteriormente, o pedido de autorização da ANVISA para seu uso no tratamento clínico da CVV. Essas etapas são promissoras e respaldadas pelas importantes ações biológicas da própolis, bem como pelo seu baixo custo e fácil disponibilidade no mercado, inclusive no sistema público de saúde.

### REFERÊNCIAS

ACHKAR, Jaqueline M. **Candida infections of the genitourinary tract.** *Clinical microbiology reviews*, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 253-273, 7 abr. 2010.

BURDOCK, George A. **Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis).** *Food and Chemical toxicology*, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 347-363, 1 abr. 1998.

CAPOCI, Isis Regina. **Propolis is an efficient fungicide and inhibitor of biofilm production by vaginal *Candida albicans*.** *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, [S. l.], v. 2015, p. 1-9, 1 jan. 2015

CASTALDO, Stefano. **Propolis, remedy used in modern medicine.** *Fitoterapia*, [S. l.], ano 2002, v. 73, 1 nov. 2002. 1, p. s1-s6.

COLOMBO, Arnaldo L. **Brazilian guidelines for the management of candidiasis - a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, ano 2013, v. 17, n. 3, p. 283-312, 1 jun. 2013.

GONÇALVES, Bruna. **Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors.** *Critical reviews in microbiology*, [S. l.], v. 42, n. 6, p. 905-927, 21 dez. 2015.

KENNEDY, Melissa A. **Vulvovaginal candidiasis caused by non-albicans Candida species: new insights.** *Current Infectious Disease Reports*, [S. l.], ano 2010, v. 2, n. 6, p. 465-470, 4 set. 2010.

LONGHINI, Renata. **Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, [S. l.], ano 2007, p. 388-395, 1 jul. 2007.

**MANUAL DE ORIENTAÇÃO EM TRATO GENITAL INFERIOR E COLPOSCOPIA: VULVOVAGINITES.** São Paulo: Febrasgo, 2010.

MTIBAA, L. **Vulvovaginal candidiasis: Etiology, symptomatology and risk factors.** *Journal de mycologie medicale*, Tunisia, v. 27, n. 2, p. 153-158, 1 jun. 2017.

NEWMAN, David J. **Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014.** *Journal of natural products*, [S. l.], v. 79, n. 3, p. 629-661, 7 fev. 2016.

RYAN, Ahmad. **Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, [S. l.], ano 2018, v. 98, p. 469-483, 1 fev. 2018.

PAPPAS, Peter G. **Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis Update by the Infectious Diseases Society of America.** *Clinical Infectious Diseases*, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 1-50, 15 fev. 2016.

SILVA, Penildon. **Farmacologia.** [S. l.]: Guanabara koogan, 2002.

SILVA, Sonia. **Candida parapsilosis and Candida tropicalis: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance.** *FEMS Microbiology Reviews*, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 288-305, 1 mar. 2012.

SOBEL, Jack D. **Genital candidiasis.** *Medicine*, [S. l.], v. 42, n. 7, p. 364-368, 1 jul. 2014.

SOBEL, Jack D. **Recurrent vulvovaginal candidiasis.** *American journal of obstetrics and gynecology*, [S. l.], v. 204, n. 1, p. 15-21, 1 jan. 2016.

SOBEL, Jack D. **Vulvovaginal candidosis.** *The Lancet*, [S. l.], ano 2007, v. 369, p. 1961-1971, 9 jun. 2007.

VEIGA, Flavia F. **Propolis Extract for Onychomycosis Topical Treatment: From Bench to Clinic.** *Frontiers in microbiology*, [S. l.], ano 2018, v. 9, p. 779, 25 abr. 2018.

## BIOENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REPELENTE EM MOSQUITOS ADULTOS

### **Fabíola da Cruz Nunes**

Universidade Federal da Paraíba, Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores, João Pessoa-PB.

### **Maria de Fátima Vanderlei de Souza**

Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, João Pessoa-PB.

### **Diégina Araújo Fernandes**

Universidade Federal da Paraíba, Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, João Pessoa-PB.

### **Maria Denise Leite Ferreira**

Universidade Federal da Paraíba, Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, João Pessoa-PB.

### **Louise Helena Guimarães de Oliveira**

Universidade Federal da Paraíba, Mestranda em Biotecnologia, João Pessoa-PB.

### **Gustavo De Figueiredo**

Universidade Federal da Paraíba, Curso de Graduação em Biotecnologia, João Pessoa-PB.

### **Hyago Luiz Rique**

Universidade Federal da Paraíba, Curso de Graduação em Biotecnologia, João Pessoa-PB.

saúde pública, considerando sua crescente dispersão territorial e necessidade de ações de prevenção e controle cada vez mais difíceis (Lakshmi et al., 2018). Um dos vetores mais conhecidos é o *Aedes aegypti* L., principal transmissor de doenças emergentes e negligenciadas que afetam a saúde humana, como dengue, febre amarela urbana e mais recentemente chikungunya e zika (Botas et al., 2017, Fernandes et al., 2019).

Para redução da densidade populacional desse vetor, recomenda-se o controle integrado com uso de inseticidas e repelentes, sendo que somente as fêmeas do mosquito são hematófagas, ou seja, se alimentam de sangue de hospedeiros, como fonte nutricional para maturação dos seus ovos. Os repelentes tópicos e ambientais continuam sendo a primeira linha de defesa, devido a sua ação rápida e de fácil aplicação (Murugan et al. 2012).

Repelentes são substâncias aplicadas sobre a pele, roupas e superfícies que desencorajam a aproximação de insetos. No contexto de saúde pública desempenham papel importante, reduzindo o risco de transmissão de inúmeras doenças infecciosas e reações imunoalérgicas resultantes da picada desses artrópodes (Ribas & Carreño, 2010).

## 1 | INTRODUÇÃO

As arboviroses são um grupo de doenças virais transmitidas por vetores, reconhecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um problema global e um assunto de

Um dos primeiros repelentes a ser desenvolvidos foi o DEET (N, N-dietil-m-toluamida), considerado seguro e eficaz, e um dos mais utilizados, no entanto são relatados na literatura alguns efeitos adversos atrelados ao uso contínuo e prolongado dos mesmos, como: dermatites, eczemas, enxaquecas e dificuldades respiratórias (Osimitz *et al.*, 2010). O DEET está disponível comercialmente em concentrações que podem variar entre 5% a 100% e em múltiplas formulações, incluindo loções, cremes, aerossóis e rolons (Oliveira-Filho, 2014).

Dessa forma, a busca por métodos alternativos no combate ao *Ae. aegypti*, que sejam eficientes, economicamente viáveis, biodegradáveis e mais seletivos torna-se essencial (Silva *et al.*, 2014; Nunes *et al.*, 2015, Fernandes *et al.*, 2018). Esses fatos resultaram no desenvolvimento de vários repelentes livres de DEET, com ativos a base de plantas, geralmente contendo óleos essenciais e extratos de plantas (Rodriguez *et al.*, 2015; Keziah *et al.*, 2015).

As espécies vegetais são uma fonte inestimável de novos agentes repelentes devido ao grande número de compostos inseticidas encontrados em plantas como defesas contra insetos (Garcez *et al.*, 2013). Neste sentido, a grande diversidade da flora brasileira e o comprovado potencial larvicida e repelente de diversos de seus representantes indicam que os repelentes naturais podem suprir as necessidades de alternativas ao controle de populações resistentes ao *Ae. aegypti*, bem como minimizar o surgimento de efeitos adversos (Torres *et al.*, 2014, Gomes *et al.*, 2016, Ferreira *et al.*, 2019). As pesquisas e os esforços para avaliar e desenvolver repelentes à base de plantas tornaram-se muito mais rigorosos nos últimos anos (Mukandiwa *et al.*, 2016).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a adaptação do teste de repelência, desenvolvido pela World Health Organization (WHO, 2013) utilizando um olfatômetro em Y construído com folhas de polipropileno adaptado da, analisando o desempenho em repelir, atrair ou inibir fêmeas do mosquito *Ae. aegypti* e verificar sua eficácia em testes com produtos repelentes químicos sintéticos e naturais.

## 2 | METODOLOGIA

### Bioensaio para avaliar a atividade repelente

#### *Manutenção do ciclo de vida*

Para esse experimento, foram utilizados insetos da espécie *Aedes aegypti* L., linhagem Rockefeller João Pessoa, obtidos de uma colônia cíclica mantida a mais de sete anos no Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores (LAPAVET), do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba. As populações da cepa Rockefeller, são caracterizadas como uma linhagem padrão de

mosquito, susceptível à classe de inseticidas químicos derivados de produtos naturais. Estes são utilizados como referência em estudos de monitoramento de resistência comparados com os mosquitos existentes nas cidades brasileiras (França, 2015).

Inicialmente foram dispostos discos de papel filtro, contendo ovos fertilizados do *Ae. aegypti* em recipiente plástico com água, após em média três dias eclodiam as primeiras larvas, passando pelos estágios L1-L4, nessa etapa as larvas eram alimentadas com ração para animais, em seguida elas transformam-se nas pupas, estas eram transferidas para recipientes plásticos devidamente telados, chamados de insetários, donde após três dias emergiam os insetos adultos, esses por sua vez são alimentados com uma solução de mel, as fêmeas se alimentam do sangue de neonatos para que ocorra a maturação dos seus ovos (Fernandes, 2017).

Os mosquitos machos também são atraídos pelos mesmos estímulos que levam as fêmeas a encontrarem os hospedeiros. Porém, machos não se alimentam de sangue e, possivelmente voam ao redor do hospedeiro esperando fêmeas para o acasalamento (Cabrin, 2005). Para realizar o teste aqui detalhado foram utilizadas apenas as fêmeas do *Ae. aegypti*.

O ciclo do *Ae. aegypti* é mantido dentro de uma câmara climatizada do tipo Biological Oxygen Demand (BOD), sob condições de temperatura controlada de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa do ar  $75 \pm 5\%$  e fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro (WHO, 2013; Imam et al. 2014; Nunes et al. 2015). A utilização de condições normalizadas de manutenção do ciclo de vida do mosquito para ensaios laboratoriais é essencial para garantir a confiabilidade e reprodutibilidade dos dados (WHO, 2013, Nunes et al. 2019).

## Modelo animal

Para o teste de repelência foram utilizados neonatos de ratos da linhagem *Wistar*, obtidos no Biotério Thomas George – UFPB, segundo protocolo nº 095/2016, estando de acordo com os preceitos da Lei no 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

A escolha dos neonatos se deu, pois se tornava mais fácil o manuseio durante as horas de análise, tendo em vista que os mesmos não são agitados como os ratos ou camundongos adultos, e dispensam a raspagem do pêlo, o que facilita a visualização das picadas de mosquito.

## Equipamento elaborado para testar repelência ou atração

O equipamento de análise de repelência foi desenvolvido e construído no

LPAVET-UFPB de acordo com o protocolo da WHO com modificações (WHO, 2013). O olfatômetro em Y (Figura 1) foi confeccionado em folha de polipropileno, tendo o tubo central 30 cm de comprimento e 5,5 cm de diâmetro com uma abertura por onde eram inseridas as fêmeas do *Ae. aegypti* com auxílio de um capturador. Esse tubo central estava acoplado a dois outros tubos com 20 cm de comprimento e 5,5 cm de diâmetro, formando um Y. Em cada braço do tubo Y foi colocado uma câmara (11x11x11 cm) onde foram colocados os ratos neonatos, sendo uma para o grupo experimental (com o produto repelente) e outra para o grupo controle. Essas câmaras eram cobertas com uma tela para evitar a fuga dos insetos, bem como para permitir a visualização e contagem dos mesmos. O equipamento permaneceu vedado durante todos os experimentos, que foram realizados na sala de criação de insetos do LPAVET-UFPB, com temperatura e umidade monitorados e controlados, em 25°C e 60 a 70%, respectivamente.

### Teste de repelência

Inicialmente foi feito um teste com o controle positivo (CP) e controle negativo (CN), para avaliar a eficácia do sistema. Sendo assim, no dorso do animal da câmara experimental foi aplicado e espalhado 100  $\mu$ l de água destilada (CN), enquanto no animal da câmara controle aplicou-se 100  $\mu$ l de repelente comercial a base de DEET 15%. Para avaliar a substância experimental a qual se pretendia verificar a atividade repelente, procedeu-se de forma semelhante ao que foi realizado com o CP, aplicando-se 100  $\mu$ l das substâncias teste (extrato, fases e substâncias isoladas de espécies vegetais) em uma das caixas e o CN em outra.

Para realização do experimento, os mosquitos obtidos do insetário foram previamente anestesiados pelo frio e posteriormente separou-se as fêmeas dos machos com auxílio de uma pinça. Vinte fêmeas vivas em 24h de jejum, foram colocados no corpo do olfatômetro, em seguida, foram observados no intervalo de 2 minutos para registro do braço de escolha. Os testes foram realizados em triplicata. Sendo avaliada a eficácia do repelente ao longo de um período de tempo de 4 h com a avaliação nos tempos: 0 min, 30 min, 120 min, e 240 min após aplicação (Rodriguez et al. 2015).

Para avaliarmos o índice de repelência espacial (IRE), foram registrados os mosquitos que optaram por um dos braços, e os que ficaram no eixo do Y-tubo, sendo utilizada a seguinte fórmula, equação 1:

**Equação 1:** Fórmula para determinar o índice de repelência espacial

$$\text{IRE} = \frac{(\text{Bc} - \text{Bt})}{(\text{Bc} + \text{Bt})} \times \frac{(\text{Bc} + \text{Bt})}{(\text{N})}$$

Onde, IRE é o Índice de repelência espacial, Bc corresponde ao número de

mosquitos que optaram pela caixa controle, Bt ao número de mosquitos que optaram pela caixa tratamento e N o número de mosquitos inseridos inicialmente (20).

Os valores obtidos variam de -1 a 1, valores próximos a -1 indicam atração pela caixa que contém o neonato com tratamento, zero indica que não houve repelência ou atração significativa e 1 indica maior atração pelo braço controle e consequentemente maior atividade repelente das substâncias teste.

Também foram contabilizados o número de mosquitos que pousaram nos neonatos durante os intervalos, para calcularmos a porcentagem de inibição de pouso proporcionada pelas substâncias testes (Equação 2).

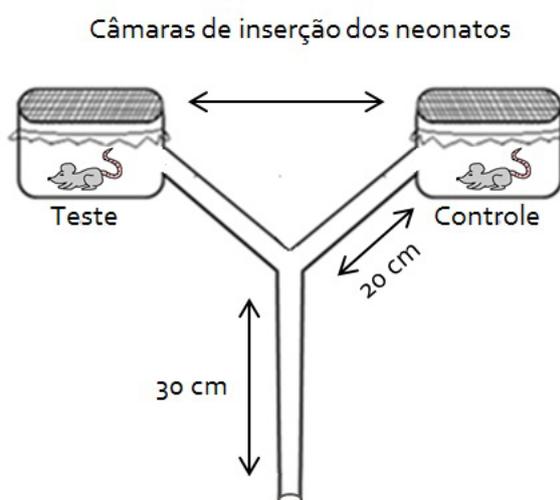


Figura 1: Desenho esquemático do olfatômetro utilizado para teste de repelência

Equação 2: Fórmula para determinar a inibição de pouso:

$$\text{Inibição do pouso} = \frac{(P_c - P_t)}{(P_c)} \times 100$$

Onde,  $P_t$  corresponde ao número de pousos no tratamento e  $P_c$  o número de pousos no controle.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Doenças negligenciadas – Arboviroses e suas complicações

Dengue, zika, chikungunya, entre outras arboviroses são consideradas doenças negligenciadas no mundo, endêmicas em populações de baixa renda, que incapacitam ou matam milhões de pessoas todos os anos. As medidas preventivas e o tratamento são conhecidos, mas nem sempre estão disponíveis em todas as regiões onde essas doenças estão presentes (WHO, 2013).

Atualmente no Brasil existe um alerta maior para a transmissão de dengue,

zika e chikungunya, tendo como principal transmissor o *Ae. aegypti* (Brasil, 2010). O vírus da dengue pode infectar o mesmo indivíduo até quatro vezes e os sintomas se manifestam com mais severidade a cada infecção, provocando uma resposta exacerbada ao vírus, aumentando então, o risco da dengue hemorrágica e choque circulatório, podendo levar a óbito (Lindoso, 2009).

Os primeiros casos de zika no Brasil foram registrados em 2015. Sabe-se que além da transmissão desse vírus pela picada do mosquito, pode acontecer à transmissão vertical (gestante-bebê), transmissão sexual e por transfusão de sangue. Em adultos, podem ocorrer outras complicações de ordem neurológica como a Síndrome de Guillain-Barré. Em gestantes, existe o risco de problemas no desenvolvimento fetal, acarretando no nascimento do bebê com microcefalia. A chikungunya é caracterizada por sintomas mais duradouros, principalmente as dores articulares, o que pode fazer com que o indivíduo demore várias semanas para retomar suas atividades normais, além da possibilidade de reativação da doença depois de um período de melhora (Viana, et al. 2018).

### Repelência tópica e ambiental

Segundo a ANVISA os repelentes podem ser classificados em ambientais e de uso tópico. O registro dos ambientais se enquadra nos mesmos pré-requisitos de registro dos inseticidas, classificados como agentes saneantes de risco 2, devendo dessa forma possuir registro junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Brasil 2016b, Brasil, 2013). Já os repelentes de uso tópico são classificados segundo a Resolução N° 07, de 11 de fevereiro de 2015, como cosméticos com finalidade de repelência de insetos, por ser considerado um produto de Grau 2 sujeito a registro, é necessária comprovação de segurança e eficácia (Paumgartten & Delgado, 2016; Brasil, 2015, Brasil, 2016b).

Os repelentes podem ser categorizados como físicos (utilização de telas, aparelhos eletrônicos, uso de vestimentas) e químicos (sistêmicos ambientais, tópicos ou sintéticos) (Stefani et al, 2009, Fernandes, 2014). Os repelentes ambientais evitam o contato com insetos, sendo os mais indicados como adjuvantes aos repelentes tópicos (ANVISA, 2017). Os tópicos por sua vez são os mais utilizados, e consistem na aplicação sobre a pele e a formação de uma camada de vapor com odor repulsivo aos insetos, porém, seu uso, inclusive em áreas endêmicas, ocorre de forma inadequada, não garantindo uma proteção adequada (Brown & Hebert, 1997; Ribas & Carreño, 2010).

Os repelentes tópicos podem ser sintéticos ou naturais. Algumas das características desejáveis para um repelente são a eficácia por pelo menos seis horas, ser atóxico, ter pouco cheiro, ser resistente à abrasão e à água, cosmeticamente favorável e economicamente viável. Os óleos essenciais são os mais antigos repelentes conhecidos e diversas plantas já foram utilizadas com tal propósito

(Fradin, 1998, Santos, 2013).

No Brasil, há várias formas de apresentação dos repelentes tópicos, sejam em aerossóis, sprays, loções, cremes, líquidos, bastões, roll-ons ou lenços impregnados com a substância repelente. A maioria destes produtos contém DEET (N, Ndiethyl-m-toluamida), que possui atividade de amplo espectro e repele a maioria dos mosquitos conhecidos, sendo considerado o mais eficaz disponível para uso humano. No entanto, o DEET mostrou efeitos adversos quando aplicado conforme as instruções, sendo que os problemas mais comuns estão associados a irritação local da pele, anafilaxia, e muitas pessoas que aplicaram altas concentrações de DEET diariamente desenvolveram efeitos adversos mais graves devido à exposição crônica, que incluíram insônia, distúrbios do humor, e erupções cutâneas (Menon & Brown, 2005).

Por esta razão, extratos de plantas ou óleos essenciais têm sido estudados como fonte alternativa e naturais para repelentes de mosquitos, com boa eficácia, porque eles constituem uma potencial fonte de produtos químicos bioativos (Keziah et al, 2015).

### **Mecanismos de resistência dos insetos**

Atualmente o controle de insetos se baseia principalmente na remoção dos criadouros, o que representa um desafio logístico, já que na sua maioria os casos são registrados dispersamente em aglomerados urbanos (Freitas et al, 2012). A utilização de inseticidas químicos associada às campanhas populares promove a diminuição populacional do vetor no ambiente através da conscientização da necessidade de combate aos locais propícios para a proliferação do inseto. Entretanto, estudos revelam que o uso prolongado de inseticidas e repelentes promove o surgimento de populações resistentes para os diversos produtos utilizados para combatê-los (Braga & Valle, 2007).

Resistência a agentes químicos consiste na capacidade de uma população de insetos tolerar uma dose de determinado produto, que em condições normais, provocaria a mortalidade ou inibiria a aproximação da maioria dos indivíduos expostos a ele (WHO, 1957). O desenvolvimento da resistência pode promover a diminuição da efetividade do inseticida ou repelente frente a uma população de vetores e promove, subsequentemente, o aumento de doenças que estes vetores são responsáveis por propagar na sociedade (Georghiou, 1972; Roush, 1993).

Os mecanismos de defesa comportamentais são influenciados pela pressão de seleção promovida pela substância inseticida a uma determinada população de insetos, proporcionando a habilidade de evitar os seus respectivos efeitos letais (Roush, 1993). Assim, pode incluir um comportamento que previne a exposição ao composto tóxico, seja com a necessidade de um contato prévio ou a resposta de fuga frente à detecção da substância (Georghiou, 1972; Lockwood, Sparks & Story,

1984).

Os mecanismos fisiológicos podem envolver o aumento da taxa de excreção dos compostos tóxicos pelo organismo, o sequestro dos mesmos sendo armazenados em tecidos e órgãos ricos em lipídios ou até mesmo a redução da penetração do inseticida através da parede do corpo através da modificação da estrutura ou composição da cutícula (Soderlund e Knipple, 2003; Brattsten, Holyoke, *et al.*, 1986).

Os mecanismos bioquímicos de resistência consistem no aumento da destoxificação metabólica de moléculas tóxicas ao insetos e a redução do sítio de ação do composto que constitui o inseticida (Scott, 1995). Os insetos possuem sistemas enzimáticos internos para decompor estas substâncias, tais como a monoxigenases dependentes de citocromo P-450 (Scott, 1999).

Os insetos podem apresentar resistência a dois ou mais compostos químicos mediante a presença de um ou mais mecanismo de resistência no mesmo organismo (Guedes *et al.*, 1995; Berticat *et al.*, 2008). A integração desses mecanismos promovem perpetuação destes na sociedade, propagando doenças e causando diversos impactos socioeconômicos (Guedes *et al.*, 1995; Soderlund & Knipple, 2003).

## **Produtos naturais e efeito repelente para insetos**

Ao longo do desenvolvimento da humanidade, a busca de estratégias para a prevenção das picadas de insetos, seja de maneira natural e/ou artificial, na tentativa de evitar o contágio de doenças e proteger das desconfortáveis picadas, sempre estiveram presentes (CATMAT, 2012; Sorge *et al.*, 2007). Dentre estas estratégias, os repelentes, associados com os inseticidas, assumem o pressuposto objetivo.

Todavia, a eficácia do repelente, seja natural ou sintético, dependerá do modo de utilização do produto, de substâncias atrativas aos mosquitos que são exaladas na pele (ácido láctico, suor, CO<sub>2</sub>), odor, clima quente e úmido ou fragrâncias florais (Brown & Hebert, 1997; Fradin & JF, 2002; Miot *et al.*, 2004). Logo, atenta-se ao fato que a utilização correta do repelente promove uma proteção relativa frente aos fatores externos, no qual esta relacionado diretamente no combate a doenças transmitidas por mosquitos vetores.

Repelentes têm um lugar importante na proteção do homem contra as picadas de insetos e na interrupção da transmissão de doenças. Um composto repelente deve ser tóxico para o inseto, não irritante para o usuário e de longa duração. Amidas, imidas, ésteres e outros compostos polifuncionais são conhecidos por serem bons repelentes. Plantas podem ser uma fonte alternativa para repelentes de mosquitos, porque eles constituem um potencial fonte de produtos químicos bioativos. Por isso, muito interesse tem sido focado em extratos de plantas, ou óleos essenciais como agentes potencialmente repelentes de mosquitos (Murugan *et al.*, 2007).

A flora nativa brasileira detém de um alto potencial de recursos naturais para

o desenvolvimento de inseticidas e repelentes. Neste panorama, a biotecnologia vem sendo usada para explorar esses recursos e desenvolver novos meios para o controle de insetos (Nunes et al, 2019). No território nacional, são encontrados compostos botânicos (hortelã, alho, soja, citronela, arruda) que têm demonstrado propriedades repelentes (Brasil, 2016a).

A utilização de compostos naturais, apresentado na forma de extrato ou óleo essencial, podem causar consequências diversas aos insetos seja na promoção da repelência, inibição de oviposição e da alimentação, agitações no sistema hormonal, acarretando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diferentes fases (Roel, 2001). Logo, recomenda-se a reaplicação do produto a cada hora da exposição ou a associação com os repelentes físicos ambientais, no intuito de ter uma maior proteção contra as picadas (Andrade et al., 2013, Torres et al., 2014).

Na literatura a repelência causada por extratos de plantas está comumente associada à presença de terpenos e sesquiterpenos como citronelal, cineole, eugenol e camfor, constituintes típicos do óleo de citronela, que conferem a planta características únicas como odor, atratividade de polinizadores e resistência a herbivoria (Oliveira, 2014, Lakshmi et al., 2018). Alguns compostos botânicos (como eucalipto, gerânio, soja, citronela, andiroba, óleo de aipo, alho) têm demonstrado propriedades repelentes a baixo custo e baixa toxicidade. No entanto, nenhum derivado de plantas testado até o momento demonstrou eficácia e duração semelhante ao DEET (Ribas & Carreño, 2010).

### **Bioensaios para repelência de insetos**

A preocupação em se evitar que os mosquitos causem epidemias tem aberto portas para o desenvolvimento de novos métodos de controle, que incluem não somente a descoberta de novas moléculas inseticidas, mas também alternativas para impedir que as fêmeas consigam picar seu hospedeiro (Cabrini, 2005). A atividade biológica de um composto químico é comprovada por meio de bioensaios, em geral são utilizados ensaios que discriminem respostas comportamentais de atratividade ou de repelência, para análise de compostos (Oliveira-Filho, 2014).

Segundo a OMS (2013), o ideal é que os testes de repelência sejam realizados com três ou mais mosquitos locais, de espécies susceptíveis de *Aedes* (de preferência o *Aedes aegypti*), *Culex* (de preferência *Cx. quinquefasciatus*) e *Anopheles* (de preferência *An. stephensi*, *An. gambiae* ou *An. Albimanus*), caracterizados de acordo com o padrão da OMS como orientadores para o monitoramento de susceptibilidade.

O túnel de vento em forma de tubo em Y pode ser eficiente principalmente para bioensaios com a finalidade de avaliar o efeito atrativo de odores, sintéticos ou naturais, pois nas duas extremidades menores do tubo são liberados os odores que seguem, com o vento liberado, até o tubo principal de onde virão as fêmeas que

poderão optar pelo lado mais atrativo (Tissot, 2008).

A detecção pelo mosquito de um hospedeiro potencial consiste em várias etapas onde os vários estímulos atrativos, internos e externos, são percebidos à medida que o inseto se aproxima da fonte alimentar. Inicialmente, as fêmeas voam aleatoriamente no ambiente a procura de um hospedeiro, elas conseguem detectar o calor e a umidade que fazem com que elas encontrem o hospedeiro específico (Cabrini, 2005; Forattini, 2002).

A fase de receptividade ao hospedeiro ocorre quando a fêmea, após a emergência e o amadurecimento fisiológico, encontra-se apta para a ingestão de sangue e, de acordo com a espécie, adota uma estratégia para a busca deste recurso nutricional. Na fase de ativação o mosquito entra em contato com algum sinal do hospedeiro, que pode ser visual ou olfativo e vai orientá-lo em direção a este estímulo; e na fase final de atração a fêmea aproxima-se do hospedeiro, entrando em contato ou não (Tissot, 2008).

## 4 | CONCLUSÕES

Com esse trabalho podemos concluir que a utilização do olfatômetro em Y confeccionado com folhas de polipropileno para estudos com mosquitos é adequada, pois conseguimos homogeneidade nas respostas para as repetições, sendo as principais vantagens desse método, o baixo custo do material utilizado para confeccioná-lo e a facilidade em se fazer adaptações, podendo o mesmo ser utilizado facilmente nos bioensaios com espécies vegetais na busca por repelentes naturais que auxiliem no combate as arboviroses transmitidas por vetores.

## REFERÊNCIAS

Andrade, LH, et al. Efeito repelente de azadiractina e óleos essenciais sobre *Phisgossypii glover* (Hemiptera: Aphididae) em algodoeiro. Revista Ciência Agronômica, v.44, n.3, p. 628-634, 2013.

Berticat, C, et al. Costs and benefits of multiple resistance to insecticides for *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. BMC Evolutionary Biology , v. 8, p. 1-9, 2008.

Botas, GS, Cruz, RAS; Almeida, FB; Duarte, JL; Araújo, RS; Souto, RNP; Ferreira, R; Carvalho, JCT; Santos, MG; Rocha, L; Pereira, VLP; Fernandes, CP. *Baccharis reticularia* and Limonene Nanoemulsions: Promising larvicidal agentes for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Control. Molecules, v. 22, p. 1990-2003, 2017.

Braga, IA; Valle, D *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência\*. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.

Brasil. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm). Acesso em: 31 jul. 2019.

Brasil. Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais – CIUCA. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6899.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6899.htm). Acesso em: 31 jul. 2019.

Brasil. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução – RE nº 19 de 19 de abril de 2013. *Dispõe sobre os requisitos técnicos para a concessão de registro de produtos cosméticos repelentes de insetos e dá outras providências*. Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil; Brasília-DF, 2013.

Brasil . Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução -RDC nº 7, de 10 de fevereiro de 2015. *Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências*. Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil; Brasília-DF, 2015.

Brasil. Coordenação de agroecologia - ministério da agricultura. Plantas repelentes a insetos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. [S.l.], p. 32-33. 2016a.

Brasil . Recomendações técnicas ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária para colaborar no combate ao *Aedes aegypti* e prevenção e controle da Dengue, Chikungunya e infecção pelo vírus Zika. Brasília-DF. 2016b.

Brattsten, L. et al. Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. *Science*, v. 231, n. 4743, p. 1255-1260, 1986.

Brown, M; Hebert, A. Insect repellents: an overview. *J Am Acad Dermatol*, v. 36, n. 2, p. 243-9, Feb 1997

Cabrini, I. Avaliação de repelentes eletrônicos e estudos quanto a eficiência de transposição de telas, utilizando *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1854) (Diptera: Culicidae). Dissertação (Mestrado em Parasitologia), Campinas-SP, 2005.

CATMAT - COMMITTEE TO ADVISE ON TROPICAL MEDICINE AND TRAVEL. Statement on personal protective measures to prevent arthropod bites. *Canada communicable disease report*. Canada, p. 18, 2012.

Fernandes, DA. Estudo fitoquímico de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). 2017. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2017.

Fernandes, DA; Souza, MSR; Teles, YCF; Oliveira, LHG; Lima, JB; Conceição, AS; Nunes, FC; Silva, TMS; Souza, MFV. New sulphated flavonoids and larvicidal activity of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae). *Molecules*, v. 23, p. 2784-2794, 2018.

Fernandes DA, Barros RPC, Teles YCF, Oliveira LHG, Lima JB, Scotti MT , Nunes FC , Conceição AS, Souza MFV. Larvicidal Compounds Extracted from *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) Evaluated against *Aedes aegypti* L. *Molecules*, v. 24, 2019.

Fernandes, ET; Favero, S. Essential oil of *Schinus molle* L. for *Most.1855 Sitophilus zeamais* (Coleoptera Curculionidae) in maize. *Rev. Bras. de Agroecologia*. 9(1): 225-231, 2014.

Ferreira MDL, Fernandes DA, Nunes FC, Teles YCF, Rolim YM, Silva CM, Albuquerque JBL, Agra MF, Souza MFV. Phytochemical study of *Waltheria viscosissima* and evaluation of its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. *Rev bras Farmacogn online publication*, 2019.

Forattini, OP. *Culicidologia Médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia*. São Paulo, vol.2, 2002.

França, LP. Avaliação da atividade larvicida de extratos e óleo essencial de *Piper capitarianum* Yunck,

- 1966 (Piperaceae) sobre *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 e *Anopheles* sp (Culicidae) em laboratório. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas. Manaus-AM, 2015.
- Fradin, M. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito. N Engl J Med , v. 347, p. 13-18, July 2002.
- Freitas, RM et al. Why do we need alternative tools to control mosquito-borne diseases in Latin America? Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 108, n. 6, p. 828-829, 2012.
- Garcez WS, Garcez FR, Silva LMG, Sarmiento UC. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. Revista Virtual de Química, v. 5, 2013.
- Georghiou, G. P. The Evolution of Resistance to Pesticides. Annual Review of Ecology and Systematics, v. 3, p. 133-168, 1972.
- Gomes PRB, Silva ALS, Pinheiro HA, Carvalho LL, Lima HS, Silva EF, Silva RP, Louzeiro CH, Oliveira, MB, Filho VEM. Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale Roscoe* (gingibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v. 18, p. 597-604, 2016.
- Guedes, RNC et al. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Stored Products Research, v. 31, n. 2, p. 145-150, 1995.
- Imam, H, Zarnigar, D, Sofi, G, Aziz, S. The basic rules and methods of mosquito rearing (*Aedes aegypti*). Tropical Parasitology, v. 4, p. 53-55, 2014.
- Keziah, EA, Nukenine, EN, Danga, SPY, Younoussa, L, Esimone, CO. Creams formulated with *Ocimum gratissimum* L. and *Lantana camara* L. crude extracts and fractions as mosquito repellents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Journal of Insect Science, v. 15, n. 1, 2015.
- Lakshmi KV, Sudhikumar AV, Aneesh EM. Larvicidal activity of phytoextracts against dengue fever vector, *Aedes aegypti* - A review. Plant Science Today, v. 5, p. 167-174, 2018.
- Lindoso, JAL; Lindoso, AABP. **Doenças tropicais negligenciadas no Brasil**. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 51, n. 5, p. 247-253, 2009.
- Lockwood, JA, Sparks, TC, Story, RN. Evolution of Insect Resistance to Insecticides: A Reevaluation of the Roles of Physiology and Behavior. Bulletin of the Entomological Society of America, v. 30, n. 4, p. 41-51, 1984.
- Menon, K, Brown, A. Exposure of children to Deet and other topically applied insect repellents. Am J Ind Med, v. 47, n. 1, p. 91-97, Jan 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Ciência e Tecnologia. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde**. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 200-202, fev. 2010.
- Miot, H. et al. Comparative study of the topical effectiveness of the andiroba oil (Carapa. Rev Inst Med Trop, São Paulo, v. 46, p. 253-6, 2004Mukandiwa, L.; Eloff, J. N.; Naidoo, V. Larvicidal activity of leaf extracts and seselin from *Clausena anisata* (Rutaceae) against *Aedes aegypti*. South African Journal of Botany, v. 100, p. 169-173, 2016.
- Murugan, K, Kumar, PM, Kovendan, K, Amerasan, D, Subrmaniam, J, Hwang, JS. Larvicidal, pupicidal, repelente and adulticidal activity of *Citrus sinensis* orange peel extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Parasitol Res 111:1757-1769, 2012.

- Nunes, FDC. Estudo da Atividade Larvicida da *Agave sisalana* contra larvas de *Aedes aegypti*. Rede Nordeste de Biotecnologia. Joao Pessoa, p. 115. 2013
- Nunes, F. et al. Larvicidal activity of *Agave sisalana* against *Aedes aegypti* mosquito, the dengue vector. BMC Proceedings, Florianópolis, v. 9, n. 4, p. 10-14, Novembro 2014
- Nunes, FC, Leite, JA, Oliveira, LHG, Sousa, PAPS, Menezes, MC, Moraes, JPS, Mascarenhas, SR, Braga, VA. The larvicidal activity of *Agave sisalana* against L4 larvae of *Aedes aegypti* is mediated by internal necrosis and inhibition of nitric oxide production. Parasitol Res. v. 114, p. 543-549, 2015.
- Nunes, FC, Oliveira, LHG, Sousa, PAPS, Rique, HL. Biotecnologia no controle de mosquitos transmissores de arboviroses: bioensaios para avaliação da atividade inseticida em mosquitos adultos. As ciências biológicas e da saúde na contemporaneidade 2. Atena Editora, Cap. 10. p. 94-102. 2019.
- Oliveira Filho, JG. Avaliação do papel repelente de voláteis isolados no odor de cães da raça beagle contra o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiania – GO, 2014.
- Osimitz, TG, Murphy, JV, Fell, LA, Page, B. Adverse events associated with the use of insect repellents containing N,N-diethyl-m-toluamide (DEET). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 56, p. 93–99, 2010.
- Paugarten, FJR, Delgado, IF. Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez. *Vigil. Sanit. Debate*. Vol. 4, No. 2, pp. 97-104, 2016.
- Ribas, J, Carreño, AM. Avaliação do uso de repelentes contra picada de mosquitos em militares na Bacia Amazônica. *Na. Bras Dermatol*, v. 85, pp. 33-38, 2010.
- Rodriguez, SD, Drake, LL, Price, DP, Hammond, JI, Hansen, IA. The Efficacy of Some Commercially Available Insect Repellents for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Science*, v. 15, p. 1-5, 2015.
- Roel, AR. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. *Revista Internacional de Desenvolvimento Local*, v. 1, n. 1, p. 43-50, 2001.
- Roush, RT. Occurrence, genetics and management of insecticide resistance. *Parasitology Today*, v. 9, n. 5, p. 174-179, 1993
- Santos, MRA, Lima, RA, Silva, AG, Teixeira, CAD, Alpirez, IPV, Facundo, VA. Chemical constituents and insecticidal activity of the crude acetonetic extract of *Piper alatabaccum* Trel & Yuncker (Piperaceae) on *Hypothenemus hampei* Ferrari. *Rev. bras. plantas med.* vol.15 no.3 Botucatu 2013.
- Scott, JG. The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress. *Florida Entomologist* , v. 78, n. 3, p. 399-414, 1995.
- Scott, JG. Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 29, n. 9, p. 757-77, 1999.
- Silva, SLC, Gualberto, AS, Carvalho, KS, Fries, DD. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae), v. 27, p. 79-85, 2014.
- Soderlund, D, Knipple, D. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochememistry and Molecular Biology*, v. 33, p. 563-577, 2003.

Sorge, F. et al. Children arthropod bites protective measures: insecticides and repellents. Arch Pediatr, v. 14, n. 12, p. 1442-50, 2007.

Stefani, GP. et al. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. Rev Paul Pediatr, v. 27, n. 1, p. 81-89, 2009.

Tissot, AC. Testes de repelência com nova metodologia em *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Culicidae, Diptera) e determinação química do óleo essencial de *Trichilia pallida* (Meliaceae). Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.

Torres SM, Nad Cruz NLN, Rolim VPM, Cavalcanti MIA, Alves LC, Silva Júnior VAS. Mortalidade acumulativa de larvas de *Aedes aegypti* tratadas com compostos. Rev Saúde Pública, v. 48, p. 445-450, 2014.

Torres-Estrada, JL & Rodriguez, MH Señales físico químicas involucradas em la búsqueda de hospederos y em la inducción de picadura por mosquitos. Salud Pública de México, v. 6, p.497-505, 2003.

Viana, LRC et al. Arboviroses reemergentes: perfil clínico-epidemiológico de idosos hospitalizados. / Arboviroses reemergentes: perfil clínico-epidemiológico de idosos hospitalizados. / Reemerging arboviruses: clinical-epidemiological profile of hospitalized elderly patients. Rev Esc Enferm USP; 52: e03403, 2018.

WHO. World Health Organization. Geneva. Expert Committee on insecticides. p. 31. 1957.

WHO - World Health Organization. Guidelines for Efficacy testing of Spatial repellents. Control of neglected tropical diseases Who pesticide evaluation scheme. WHO/CDS/CPC/ MAL/13.12., Geneva, 58 pp, 2013.

## DIAGNÓSTICO, IMPLANTAÇÃO E AVALIAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO EM UMA CANTINA UNIVERSITÁRIA DE RIBEIRÃO PRETO – SP

**Raphael Petrorossi Pita**

Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto – SP

**Luciano Menezes Ferreira**

Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto - SP

**RESUMO:** Considerando que os alimentos podem ser naturalmente contaminados por diversos tipos de microrganismos, a questão está em impedir que sobrevivam, multipliquem-se ou que ocorra uma contaminação durante a manipulação inadequada. Diante disso, a avaliação deste trabalho foi realizada por meio da observação *in loco* e do preenchimento de uma lista de verificação da Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013, do estado de São Paulo. Verificou-se, no início deste trabalho, que 59,57% dos itens observados não estavam de acordo com a legislação vigente. No entanto, ao fim deste estudo, 80,85% dos itens avaliados atenderam à legislação, principalmente aqueles referentes à qualidade sanitária da produção de alimentos. Observou-se, ainda, mudança na disponibilidade de documentos, como os laudos que comprovam a qualidade da água, a limpeza da caixa d'água e o controle de vetores. Com isso, foi verificada a adequação de um estabelecimento manipulador de alimentos na cidade de Ribeirão Preto – SP perante à

legislação vigente por meio da utilização de um check-list observacional, elaboração de um plano de ação, adoção de medidas corretivas, orientação e capacitação do proprietário e dos funcionários. Por fim, demonstrou-se, também, que o médico-veterinário pode auxiliar positivamente este tipo de estabelecimento a se adequar à legislação e a produzir alimentos de acordo com as normas higiênico-sanitárias necessárias a fim de preservar a saúde do consumidor.

**PALAVRAS-CHAVE:** segurança alimentar; consultoria; saúde única.

### DIAGNOSTIC, IMPLANTATION AND AVALIATION OF GOOD MANUFACTURING PRACTICES AT UNIVERSITY CANTEEN IN RIBEIRÃO PRETO – SP

**ABSTRACTY:** Since foods can be naturally contaminated by various types of microorganisms, the issue is to prevent them from surviving, multiplying or contaminating during improper handling. Therefore, the evaluation of this work was performed by observing *in loco* and completing a checklist of Portaria CVS 5, of April 9, 2013, of the state of São Paulo. At the beginning of this study, 59.57% of the observed items were not in accordance with current legislation. However,

at the end of this study, 80.85% of the items evaluated met the legislation, especially those related to the sanitary quality of food production. There was also a change in the availability of documents, such as the reports that prove the water quality, the cleaning of the water tank and the vector control. Thus, it was verified the adequacy of a food handling establishment in the city of Ribeirão Preto - SP according to current legislation through the use of an observational check-list, preparation of an action plan, adoption of corrective measures, guidance and training of the owner and staffs. Finally, it has also been shown that the veterinarian can positively assist this type of establishment in complying with the legislation and producing food in accordance with the necessary sanitary and hygiene standards in order to preserve consumer health.

**KEYWORDS:** food safety; consultancy; one health.

## 1 | INTRODUÇÃO

As mudanças observadas nos hábitos alimentares da população em geral nas últimas décadas fizeram com que as pessoas busquem formas de se alimentarem fora das residências. Fatores ligados à emancipação da mulher na sociedade e sua entrada no mercado de trabalho, assim como a falta de tempo para elaborar as refeições em casa, tornam cada vez maior o número de pessoas que se alimentam fora de casa.

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE), o setor alimentício, em comparado com as demais atividades, teve o maior ganho de participação (2,2 pp) no período de 2007 a 2016, passando da sexta posição (5,5%) para a quarta posição (7,7%).

Portanto, o manipulador é o grande responsável pela contaminação dos alimentos, conhecida como DTA (Doença Transmitidas por Alimentos). Considerando que os alimentos já são naturalmente contaminados por diversos tipos de microrganismos, a questão está em impedir que sobrevivam, multipliquem ou que ocorra uma contaminação por outros microrganismos pela manipulação inadequada.

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são uma forma de atingir um padrão alto de qualidade, tendo como meta a máxima redução dos riscos, aumentando com isso a qualidade e a segurança dos alimentos. Para complementar as BPF, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP), que são procedimentos escritos onde se estabelecem instruções sequenciais de operações rotineiras e específicas na produção, armazenamento e o transporte de alimentos (BRASIL, 2002).

## 2 | OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi realizar o diagnóstico, a implantação e a avaliação de boas práticas de manipulação em uma cantina universitária de Ribeirão Preto –

SP, de acordo com as legislações vigentes para o controle higiênico-sanitário dos alimentos.

### 3 | MATERIAL E MÉTODOS

A coleta de dados foi feita por meio do preenchimento do *check-list* disponibilizado pela Portaria CVS 5, do estado de São Paulo, por meio da observação dos seguintes itens no local: Higiene e saúde dos funcionários, Responsabilidade Técnica e Capacitação pessoal; Qualidade sanitária da produção de alimentos; Higienização das instalações e do ambiente; Suporte operacional; Qualidade sanitária das edificações e das instalações; e Documentação e registro das informações.

Os itens verificados foram enumerados de 1 a 55, sendo divididos em capítulos e seções conforme descrito na portaria, iniciando-se a partir do Capítulo II, visto que o Capítulo I refere-se às disposições iniciais da referida legislação.

Após a coleta de dados obtidos na primeira visita foi elaborado um relatório apontando somente as respostas negativas, consideradas como não conformidades, identificadas no estabelecimento (49,09% do total das questões). Diante dos problemas encontrados, foram elaboradas as medidas corretivas para todas as não conformidades, e apresentadas ao proprietário do estabelecimento nesta visita, momento em que foi elaborado, ainda, um plano de ação.

Para facilitar essa discussão, o relatório e as medidas corretivas foram impressos e apresentados ao proprietário do estabelecimento, momento em que foram estipuladas datas para a adequação à Portaria CVS 5. Neste momento, ainda foram estabelecidos os temas a serem abordados na capacitação dos colaboradores, assim como do proprietário, de acordo com as principais não conformidades encontradas, tais como: Boas Práticas de Fabricação (BPF); Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs); e Doenças transmitidas por alimentos.

Foi ministrada palestra aos colaboradores e ao proprietário, tendo como enfoque as Boas Práticas de Fabricação. Também foi verificada a realização de algumas das medidas corretivas propostas na visita anterior, como a aquisição de lixeira com tampa acionada por pedal na cozinha, o controle de temperatura dos freezers e refrigeradores em planilhas específicas, POP para higienização de saladas, sabão antisséptico líquido nas saboneteiras e utilização de papel toalha de material não reciclado.

Após o período de 30 dias solicitado pelo proprietário para a adequação das não conformidades do estabelecimento, nesta visita foram observados novamente os itens do mesmo *check-list*, com o intuito de verificar a realização das ações corretivas.

## 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a coleta de dados obtidos na primeira visita foi verificado que 49,09% dos itens observados não estavam de acordo com a legislação. Diante disso, foram elaboradas medidas corretivas para todas as não conformidades e apresentadas ao proprietário do estabelecimento por meio de um plano de ação.

A seguir, apresentam-se todas as não conformidades encontradas neste estudo de acordo com o capítulo e sua respectiva seção (BRASIL, 2013):

Em relação ao Capítulo II, onde se abordam informações sobre higiene dos funcionários, responsabilidade técnica e capacitação de pessoal, mais especificamente na seção I (Controle de Saúde dos Funcionários), no primeiro item o estabelecimento não possuía de forma comprovada atestado médico, nem laudos laboratoriais sobre a saúde dos colaboradores. Sendo assim, não havia um registro de controle de saúde de seus funcionários. O mesmo resultado pode ser observado no trabalho de Santos (2010), onde 100% dos estabelecimentos pesquisados não possuíam o registro de controle de saúde dos funcionários, sendo feito também apenas os exames admissionais.

Na seção II (Higiene e Segurança dos Funcionários) do mesmo capítulo, uma das não conformidades encontradas foi a presença de adornos nos funcionários (brincos, pulseiras, relógio e correntes) e a outra foi referente aos hábitos e comportamentos que evitam a contaminação dos alimentos. O mesmo pode ser observado no trabalho da Poerner (2009), onde os manipuladores também usavam adornos, porém apresentavam unhas compridas e lesões visíveis nos dedos, itens não encontrados neste estudo.

Quanto às questões referentes ao responsável técnico do estabelecimento e a capacitação de pessoal (seção II do capítulo II), ambas foram identificadas como não conformes no primeiro *check-list*, pois o responsável pelo estabelecimento não era comprovadamente capacitado para implantar BPF, além de não possuir um programa de capacitação da sua equipe. Diante disso, foi elaborado um treinamento com a finalidade de efetuar tal capacitação, onde após este, tanto o proprietário como os funcionários ficaram em conformidade com este item.

Andreotti (2003) demonstrou, em seu trabalho, que após a realização do treinamento a porcentagem dos itens em conformidades aumentou de 29% para 47%, enquanto que os itens inadequados diminuíram de 71% para 53%. Ressaltou, ainda, que antes do treinamento os funcionários desconheciam a maioria dos procedimentos de higiene pessoal que deveriam ser adotados para evitar a contaminação dos alimentos.

Referente à recepção e ao controle de mercadorias, embora fossem realizados em local próprio e observados os quesitos de qualidade, como embalagens, rotulagens e avaliações sensoriais adequados, a medição da temperatura dos produtos recebidos não era realizada. No entanto, após treinamento este passou

a ser feito periodicamente e registrado em planilha afixada na parede do local de recepção das mercadorias.

O mesmo pode ser observado por Santos (2010) em relação ao controle de temperatura durante o recebimento das mercadorias, onde 100% dos estabelecimentos pesquisados não possuíam especificado nenhum critério para avaliação e seleção de fornecedores, nem para controle de temperatura na recepção das mercadorias perecíveis. Neste presente estudo, embora ainda houvesse a necessidade de investimentos por parte do estabelecimento no sentido de adequação e atendimento de alguns itens de exigências da legislação, os mesmos não foram considerados de risco para a saúde do consumidor.

Os refrigeradores e freezers atendiam às necessidades, pois estavam em bom estado de conservação e de higienização, porém não possuíam controle de temperatura. Resultado parecido pode ser observado no estudo de Ferreira (2011), onde os problemas mais frequentes encontrados estavam nos equipamentos de conservação dos alimentos (freezers e refrigeradores), que não apresentavam medidor de temperatura ou não estavam em adequado estado de funcionamento, além da inexistência de registros de manutenção preventiva dos equipamentos, os quais só possuíam manutenção corretiva.

Neste trabalho foi observado, ainda, que a disposição dos alimentos não era realizada de forma adequada. Situação semelhante foi relatada por São José et al. (2008), em que o acondicionamento dos produtos refrigerados foi considerado inadequado, uma vez que, leite e derivados, ovos, hortaliças e frutas eram armazenados na mesma câmara fria.

Após a capacitação dos funcionários, as embalagens, a matéria prima, os alimentos preparados e as sobras dos mesmos passaram a ser identificados, enquanto que o local dos produtos fora do prazo de validade ou para devolução passou a ser identificado. O controle de temperatura dos refrigeradores e freezers começou a ser feito periodicamente e registrados em planilhas afixadas nos mesmos, e a disposição dos alimentos passou a ser feita de forma correta.

Já na seção do pré-preparo dos alimentos (III), todos os itens não estavam adequados na primeira visita, pois foi observada a ausência de alguns cuidados higiênicos que poderiam corroborar para a contaminação cruzada dos alimentos. Não conformidades encontradas: na manipulação de alimentos crus, o descongelamento das carnes era feito em vasilha sobre o congelador, ou seja, sem refrigeração (4°C); e os hortifrutícolas não eram higienizados em solução de hipoclorito, nem havia um POP específico para o mesmo.

O art. 39 da CVS 5, do estado de São Paulo, descreve que o procedimento de higienização de hortifrutícolas deve ser feito em local apropriado, com água potável e com produtos desinfetantes para uso de alimentos, regulamentado na ANVISA. Deve ser efetuado em dois passos: o primeiro com a remoção das partes deterioradas e sujidades de forma mecânica sob água corrente e potável, e o segundo com a

desinfecção por imersão em solução desinfetante. Quando utilizada solução clorada, os hortifrutícolas devem permanecer imersos por quinze minutos, enxaguados em seguida com água potável (ANVISA, 2013; BRASIL, 2013).

Na distribuição dos alimentos preparados (seção V), os itens tempo e temperatura de exposição, temperatura da água do balcão térmico, e manipulador sem acesso ao caixa estavam como não conformes na primeira aplicação do *check-list*. Porém, após a capacitação, a falta de controle da temperatura dos alimentos servidos, ou seja, em exposição, foram solucionados. Para isso, foi utilizado termômetro tipo espeto para o controle da temperatura interna dos alimentos quentes, que se manteve no mínimo a 60°C, utilização de termômetro infravermelho para a verificação da temperatura da água do balcão de exposição, que se manteve entre 80 a 90°C e, por fim, os alimentos servidos sob refrigeração, que apresentou temperatura de no máximo 10°C. Diante disso, todos esses parâmetros de temperatura estavam de acordo com a legislação após a palestra de capacitação.

Em estudo realizado por Santos (2010), foi observado que não havia controle de temperatura dos balcões térmicos, além de não possuírem dimensão compatível com a quantidades de alimentos expostos. Já Ferreira (2011) teve, como problema mais frequentemente encontrado nos equipamentos de conservação dos alimentos, a ausência de medidor de temperatura ou simplesmente não estavam funcionando adequadamente, assim como não havia registros de manutenção preventiva, os quais só possuíam manutenção corretiva.

Foi identificado, ainda, a falta de um funcionário específico para o atendimento no caixa (pagamentos), pois observou-se que, em horários de pico, o proprietário também auxiliava no atendimento do balcão, uma vez que se tratava de um estabelecimento de pequeno porte, com mão de obra reduzida. No entanto, foi orientado a necessidade de realizar a higienização das mãos com solução antisséptica sempre que fosse manipular os alimentos, já que o mesmo reforçou que não era economicamente viável a contratação de um funcionário exclusivo para o atendimento do caixa, nem contratar outro para o atendimento no balcão.

Aproximadamente 100 bactérias e fungos por centímetro quadrado podem ser isolados de cédulas (moeda em papel) com valores mais baixos, sendo esse o limite para a resistência humana. Os principais microrganismos frequentemente identificados são os coliformes termotolerantes, assim como *Staphylococcus coagulase positiva*. O primeiro grupo representa riscos à saúde humana, já que indica contaminação fecal, enquanto que o segundo, embora faça parte da microbiota normal da pele, garganta e fossas nasais de humanos e animais, é capaz de causar inúmeras enfermidades, como: pneumonia, meningite e osteomielite (TÓRTORA, 2012).

Resultado semelhante foi observado no estudo de Silva e Lima (2016), onde em uma das cantinas avaliadas, o dinheiro era manipulado no balcão de comercialização de alimentos pelo mesmo funcionário que manipulava o alimento.

Mesmo o funcionário praticando hábitos de higiene na maioria das vezes, em alguns momentos tal cuidado passava despercebido devido ao alto fluxo de movimento, principalmente em horários de pico. Portanto, há um grande indício de fonte de contaminação.

Diante do exposto, é fundamental o hábito de lavar as mãos todas as vezes que o dinheiro for manipulado, que deve ser feito por meio de lavagem com água e sabão, por um tempo de aproximadamente um minuto, dando preferência ao sabão líquido, pois em barra pode transmitir bactérias se este for de uso coletivo. Caso não seja utilizado sabão líquido antisséptico, indica-se utilizar álcool em gel após a lavagem. É importante, ainda, esfregar bem os dedos, palmas das mãos e o espaço embaixo das unhas (TÓRTORA, 2012).

No item capacitação dos funcionários e utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) ficou em conformidade após a capacitação, sendo observadas as práticas e utilização de EPI's na última visita ao estabelecimento. Dados semelhantes foram encontrados por Poerner (2009), onde o emprego de procedimentos inadequados de higienização das instalações, equipamentos, móveis e utensílios também foram observados. E, ainda, nenhum deles seguia as instruções dos fabricantes no que se referia à diluição dos produtos de higienização, tempo de contato e modo de uso.

A higienização do ambiente e das instalações (Capítulo IV) não estava em conformidade, pois a remoção das sujidades ocorria de forma incorreta (varriam a seco) e escoava-se água residual da higienização ambiental para a via pública. Diante disso, a ação corretiva foi: lavar ou passar pano úmido com água e sanitizantes, e a instalação de ralos ligados a rede pluvial, que permita ser fechado quando não utilizado, a fim de evitar pragas urbanas.

Entretanto, até o final deste estudo, os itens ainda não haviam sido corrigidos. O proprietário se propôs a testar um diferente método de limpeza das instalações utilizando, como sugestão, equipamento do tipo *mop* (esfregão), ou outro similar. Genta (2005) observou resultado parecido no aspecto higienização das instalações. O estabelecimento não atendeu a nenhum dos itens considerados críticos para este aspecto, pois não era cumprida a etapa de desinfecção. Verificou, ainda, o uso de produto de limpeza sem registro no Ministério da Saúde e a frequência da limpeza era inadequada.

Quanto aos ralos, disse que entraria em contato com a administração da instituição de ensino superior (IES), pois foi instalado conforme determinação da mesma. São José (2008) também detectou, em seu estudo, a ausência de ralos sifonados, o que corrobora para a proliferação de roedores e pragas urbanas no setor. A instalação de ralos sifonados é importante, pois impedem a entrada desses animais no ambiente (TONELLI, 2011).

O reservatório de lixo não apresentava pedal e, embora tivesse tampa, a mesma era retirada para facilitar a disposição dos resíduos. Então, foi substituído por uma

lixeira com tampa e acionamento por pedal. Resultado semelhante foi observado por São José (2001), onde os resíduos das unidades eram armazenados em tambores não-tampados e colocados próximos à porta de acesso do estabelecimento, o que contribuiu para o surgimento de pragas.

Um grande problema no manejo dos resíduos pode ser a falta de espaço físico adequado no estabelecimento para o armazenamento dos resíduos até o descarte. Em 100% dos estabelecimentos pesquisados por Santos (2010), o lixo ficava na área ligada à produção de alimentos, podendo ocasionar contaminação cruzada, além de atrair pragas.

Referente às inadequações, em conversa com o proprietário na última visita técnica, relatou que não poderá alterar o local do lavatório específico à higienização das mãos, pois depende de autorização da instituição para efetuar reformas, sendo esta negada até o momento. São José (2008) observou que a área de produção de alimentos não possuía nenhum lavatório exclusivo destinado à higienização das mãos, sendo que os manipuladores mencionaram fazer tal higienização na pia dos sanitários. Com isso, observou-se a falta de preocupação dos manipuladores com a higienização das mãos, sendo feita muitas vezes sobre o alimento nos setores de pré-preparo.

As pias para a higienização das mãos dispostas em locais estratégicos ao fluxo dos colaboradores são importantes aliadas, pois estimulam as pessoas a efetuarem a lavagem das mãos com maior frequência, tratando-se de um procedimento simples que confere segurança aos alimentos (MOMESSO, 2002).

As outras seções estavam todas em conformidades, sendo que três não se aplicavam: câmara frigorífica (seção III) ausente no estabelecimento; ausência de vestiário e instalações sanitárias (seção IX) para os funcionários e sanitários para os clientes (seção X), pois eram utilizados os da IES, uma vez que seus clientes eram os próprios universitários, os docentes e também outros funcionários da instituição.

Genta (2005) observou níveis variados de não conformidades dos estabelecimentos no aspecto de projetos e instalações, dentre os quais salientou que nenhum restaurante avaliado tinha proteção completa contra a entrada de pragas, como: telas, cortinas de ar ou proteção na parte inferior de portas.

Para a elaboração de um Manual de Boas Práticas (MBP) seria preciso mais tempo de acompanhamento do estabelecimento, porém isso não foi possível devido ao curto prazo deste experimento. No entanto, alguns POPs foram elaborados, como o da higienização das mãos, afixado acima do lavatório, o da higienização dos hortifrutícolas, afixado acima da pia da cozinha, e foi encaminhado ao proprietário, ainda, uma Cartilha sobre Boas Práticas no Serviço de Alimentação elaborada pela Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA). Como ainda não foram elaborados, foi disponibilizado ao proprietário do estabelecimento a possibilidade de serem realizados outros trabalhos em parceria.

Santos (2010) observou que os Manuais de BPF ainda não faziam parte

da realidade da maioria dos estabelecimentos manipuladores de alimentos visitados, embora fosse exigido pela legislação. Em um deles, inclusive, além de não possuir o manual, o proprietário nem tinha conhecimento de sua existência e importância. Referente aos POPs, também não havia implementado em nenhum dos estabelecimentos. Já Akutsu (2005) relatou que 100% dos hotéis avaliados e 93,33% dos restaurantes pesquisados não possuíam Manual de Boas Práticas.

Neste presente estudo, embora ainda houvesse a necessidade de investimentos por parte do estabelecimento no sentido de adequação e atendimento de alguns itens de exigências da legislação, os mesmos não foram considerados de risco para a saúde do consumidor.

A presença do médico-veterinário em estabelecimentos manipuladores de alimentos é indispensável. Principalmente na educação em saúde, esse profissional atua na difusão de informações e na conscientização das pessoas sobre temas relacionados à essa área. O médico-veterinário sanitarista atua, inclusive, em programas de proteção e de promoção da saúde humana em comunidades dentro dos princípios do desenvolvimento sustentável (PFUETZENREITER; ZYLBERSZTAJN; AVILA-PIRES, (2004).

Em uma análise geral, excluindo-se as questões que não se aplicavam ao estabelecimento, a seguir podem ser observados os resultados da aplicação do primeiro (Gráfico 1) e do segundo check-list (Gráfico 2), ou seja, o progresso que o estabelecimento teve após a capacitação do proprietário e de sua equipe.

Na primeira visita (Gráfico 1) foi constatado que 59,57% dos itens avaliados não se encontravam em conformidade, enquanto que 40,43% estavam de acordo com a legislação. No entanto, após a elaboração de um plano de ação, com posterior adoção de medidas corretivas, e ainda da palestra de capacitação, as não conformidades passaram para 19,14%, ou seja, ao final deste estudo 80,86% dos itens avaliados se encontram de acordo com a legislação.



Gráfico 1. Resultado total da aplicação do primeiro check-list efetuado de acordo com a Portaria CVS 5, onde NÃO significa fora do conforme e SIM significa em conformidade, aplicada antes da capacitação do proprietário e sua equipe, em uma cantina universitária, Ribeirão Preto – SP, 2018.



Gráfico 2. Resultado total da aplicação do segundo check-list efetuado de acordo com a Portaria CVS 5, onde NÃO significa fora do conforme e SIM significa em conformidade, aplicada após a capacitação do proprietário e sua equipe, em uma cantina universitária, Ribeirão Preto – SP, 2018.

Com disso, observa-se que o médico-veterinário pode auxiliar positivamente os estabelecimentos manipuladores de alimentos, inclusive cantinas e restaurantes, a se adequarem à legislação e a produzirem alimentos seguros.

## 5 | CONCLUSÕES

Verificou-se, no início deste trabalho, que 59,57% dos itens observados não estavam de acordo com a legislação vigente. No entanto, ao fim deste estudo, 80,85% dos itens avaliados atenderam à legislação, principalmente aqueles referentes à qualidade sanitária da produção de alimentos, como: a higienização adequada das mãos; o controle de temperatura das mercadorias na recepção; a organização do local de produtos reprovados e fora de validade; o controle de temperatura dos refrigerados e freezers por meio de planilhas; descongelamento de carnes em refrigeradores; higienização dos hortifrutícolas com utilização de um POP; controle de temperatura do balcão térmico de exposição. E, ainda, observou-se mudança na disponibilidade de documentos, como os laudos que comprovam a qualidade da água, a limpeza da caixa d'água e o controle de vetores. É importante salientar que os resultados obtidos de forma positiva, ocorreram em curto espaço de tempo (dois meses).

Com isso, foi verificada a adequação de um estabelecimento manipulador de alimentos na cidade de Ribeirão Preto – SP perante à legislação vigente por meio da utilização de um check-list observacional, elaboração de um plano de ação, adoção de medidas corretivas, orientação e capacitação do proprietário e dos funcionários.

Por fim, demonstrou-se, ainda, que o médico-veterinário pode auxiliar positivamente este tipo de estabelecimento, neste caso uma cantina universitária, a se adequar à legislação e a produzir alimentos de acordo com as normas higiênic-

sanitárias necessárias a fim de preservar a saúde do consumidor.

## REFERÊNCIAS

ANDREOTI, A. et al. A importância do treinamento para manipuladores de alimentos em relação à Higiene Alimentar — Vol. 24 — nº 190/191, novembro/dezembro — 2010 ARTIGOS higiene pessoal. Iniciação Científica, Cesumar, v.5, n.1, p. 29- 33, jan./ jun. 2003.

ANVISA. **Cartilha sobre boas práticas para serviço de alimentação**. Resolução RDC nº 216/2004. 3 ed. Brasília: Anvisa, 2004, 44 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 setembro de 2004.

BRASIL, ANVISA. Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013. **Regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação**. Brasília - DF, 2013.

BRASIL. Circular nº175/2005/CGPE/DIPOA de 16 de maio de 2005. Diário Oficial da União, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília, DF. **Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole** (Versão Preliminar).

BRASIL. Estatísticas Econômicas (Ed.). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **PAS 2016: setor de serviços gera receita de R\$ 1,5 trilhão**. 2018. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/22350-pas-2016-setor-de-servicos-gera-receita-de-r-1-5-trilhao> . Acesso em: 24 ago. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n. 1.428, de 30 nov. 1993. **Aprova regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos**. Disponível em [http://www.anvisa.gov.br/portarias/1428\\_93.html](http://www.anvisa.gov.br/portarias/1428_93.html) Acesso em 28 de setembro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013. **Regulamento técnico sobre Boas Práticas para serviços de alimentação, e o roteiro de inspeção**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de abril de 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria 7. de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. [acesso 03 de setembro de 2018] Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>.

BRASIL. Ministério do Trabalho. **Portaria n 8, de 08 de maio de 1996- NR 07**. Altera Norma Regulamentadora NR-7- Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, v. 134, n. 91, p. 8202, 13 de mai. 1996.

FERREIRA, Míriam Almeida et al. Avaliação da adequação às boas práticas em unidades de alimentação e nutrição. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, Viçosa / Mg, v. 2, n. 70, p.230-235, 2011.

GENTA, Tânia Maria de Souza; MAURÍCIO, Angélica Aparecida; MATIOLI, Graciette. Avaliação das Boas Práticas através de check-list aplicado em restaurantes self-service da região central de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, vol. 27, n. 2, 2005, p. 151-156. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brasil.

MOMESSO, A. P. **Levantamento das temperaturas de distribuição de alimentos, durante o período de serviço de bufê, em restaurantes self-service do município de São Paulo e pesquisa de agentes patogênicos e indicadores de higiene**. 2002. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

PFUETZENREITER, Márcia Regina; ZYLBERSZTAJN, Arden; AVILA-PIRES, Fernando Dias de. Evolução histórica da medicina veterinária preventiva e saúde pública. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p.1661-1668, out. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/cr/v34n5/a55v34n5.pdf> . Acesso em: 05 nov. 2018.

POERNER, Naiara et al. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em serviços de alimentação. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, Campinas, v. 3, n. 68, p.399-405, 2009.

REGO, Josedira Carvalho do et al. PROPOSTA DE UM PROGRAMA DE BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS PARA UNIDADES DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 89, p.22-27, out. 2001.

SANTOS, Mônica de Oliveira Bastos dos; RANGEL, Vanessa Pereira; AZEREDO, Denise Perdomo. Adequação de restaurante Comerciais Às Boas Práticas. **Higiene Alimentar**, Nilópolis - Rj, v. 24, n. 190/191, p.44-49, nov./ dez. 2010.

SÃO JOSÉ, J. F. B.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. **Avaliação das boas práticas de manipulação em unidade de alimentação escolar**. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v. 33, n. 3, p. 123-138, dez. 2008.

SILVA, Geisiane dos Santos; LIMA, José Raimundo Oliveira. O dinheiro como vetor de contaminação dos alimentos: Um estudo nas cantinas SOLIDÁRIA I e VII DA UEFS. **Anais I Congresso Internacional de Economia Popular e Solidária e Desenvolvimento**, Feira de Santana, v. 1, n. 1, p.1-11, mar. 2016. Disponível em: [http://www.socioeco.org/bdf\\_fiche-document-4898\\_pt.html](http://www.socioeco.org/bdf_fiche-document-4898_pt.html) . Acesso em: 03 nov. 2018.

TONELLI, Giovane; MANEIRA, A.M. A importância do Serviço de Inspeção Municipal – S.I.M. na evolução estrutural das queijarias da cidade de Uberaba – MG. **Cadernos de Pós-graduação da Fazu**, Uberaba - Mg, p.1-6, 2011.

TÓRTORA, João Carlos. **Estudo mostra que notas de dinheiro são fontes de contágio de doenças**: Teste realizado em cédulas brasileiras comprova alto nível de contaminação. 2012. Professor de Microbiologia da Universidade Gama Filho. Disponível em: <http://redeglobo.globo.com/globouniversidade/noticia/2012/03/estudo-mostra-que-notas-de-dinheiro-sao-fontes-de-contagio-de-doencas.html>. Acesso em: 03 nov. 2018.

## EDIÇÃO GENÉTICA ATRAVÉS DO CRISPR PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS

### **Jonas Ribeiro da Rosa**

Universidade São Francisco  
Bragança Paulista-SP

### **Fernanda Marconi Roversi**

Universidade São Francisco  
Bragança Paulista-SP

Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas  
(UNICAMP)  
Campinas-SP

### **Lucas de Souza Ramalhaes Feitosa**

Universidade São Francisco  
Bragança Paulista-SP

**RESUMO:** A descoberta dos genes, da molécula de DNA e a compreensão das suas funções (coordenação do desenvolvimento, funcionamento do metabolismo dos seres vivos) estimularam o meio científico a buscar, compreender e manipular o código fundamental da vida. Desse modo, o desenvolvimento de técnicas de edição de genes está possibilitando a modificação de mutações genéticas, auxiliando na identificação de possíveis tratamentos que resultariam na cura permanentemente de certas patologias, trazendo benefícios à saúde pública. Uma dessas técnicas de edição é a nuclease programável CRISPR/cas9 que possui como função a alteração de um determinado gene anômalo e, conseqüentemente, permitindo a correção de mutações gênicas, a modulação da

expressão gênica, a caracterização fenotípica de uma doença, o tratamento de doenças infecciosas, o desenvolvimento de culturas agrícolas resistentes a pragas ou a infecções, o aumento da imunidade viral em bactérias utilizadas na produção de alimentos, entre outras aplicabilidades. Alguns estudos com a CRISPR/cas9 mostram resultados promissores no tratamento de doenças monogênicas, como na acondroplasia, hemofilia e talassemia beta. Todavia, o desenvolvimento dessa metodologia propiciou o surgimento de diversos misticismos e debates éticos / filosóficos devido a associação com possíveis manipulação do genoma humano. As filosofias transumanistas, movimento intelectual com a premissa analisar e melhorar a condição humana a partir do uso de ciência e tecnologia para otimizar a capacidade cognitiva e superar as limitações humanas tem incentivado o estudo da técnica CRISPR/cas9. Vale salientar a necessidade da desmistificação da edição genética, buscando informar o seu funcionamento e os impactos socioeconômicos associados.

**PALAVRAS-CHAVE:** (1) Edição-gênica 1; (2) CRISPR/Cas9 2; (3) Tratamento.

**ABSTRACT:** The gene and DNA molecule discovery as well as the their functions comprehension highlighted the importance of scientific understanding and manipulation of the

live fundamental code. Thus, the development of gene editing techniques enabled the modification of genetic mutations the identification of possible treatments that possible results in some pathologies cure, bringing benefits to Public health. One of these editing techniques is the programmable nuclease CRISPR/Cas9, which can alter mutated gene and, consequently, allowing the correction of these gene mutations, the modulation of gene expression, the phenotypic disease characterization, the treatment of infectious diseases, the development of agricultural crops resistant to pests or infections, the increase of viral immunity in bacteria used in the production of food, among other explicabilities. Some studies with CRISPR/Cas9 show promising results in the treatment of monogenic diseases, such as achondroplasia, haemophilia and beta thalassemia. Although, the development of CRISPR methodology led to the emergence of several ethical and philosophical debates due to the association with possible manipulation of the human genome. The transumanist philosophies, intellectual movements that analyze and improve the human condition from the use of science and technology to optimize cognitive capacity and overcome human limitations has encouraged the study of the technique CRISPR/Cas9. It is very important the demystification of genetic edition, seeking to inform the functionality and associated socioeconomic impacts.

**KEY WORDS:** (1) Gene-Editing 1; (2) CRISPR / Cas9 2; (3) Treatment.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os aspectos da vida humana foram, em algum grau, reformulados pelo desenvolvimentotecnológico, incluindo amaneiradelocomoção, buscadeinformações, comunicação e o tratamento de doenças. Inicialmente, esse desenvolvimento tecnológico, através de ações que modificam o curso natural de uma doença, atenuou o ciclo celular dos microrganismos, que poderia levar a invalidez, incapacitação, recuperação ou óbito (CLARK & LEAVELL, 1976). A evolução tecnológica auxiliou na utilização de seres vivos em processos industriais (biotecnologia), possibilitando o manuseio de agentes biológicos ou de seus derivados para otimizar processos (MALAJOVICH, 2016). O desenvolvimento de tecnologia destinada à fabricação de medicamentos reduziu o processo de seleção natural de micróbios e humanos, em que o mais apto sobrevive (CLARK, 2010). A interação entre um agente biológico e o ser humano, era potencialmente letal. Em 1941, ocorre à síntese e comercialização da penicilina, marco para o tratamento de doenças e diminuição na mortalidade decorrente da seleção natural.

A descoberta do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e a posterior compreensão da sua função na coordenação, no desenvolvimento e no funcionamento do metabolismo dos seres vivos estimularam o meio científico a buscar, compreender e manipular a código fundamental da vida. A capacidade de editar tal código está relacionado à capacidade de corrigir defeitos, prevenir e curar permanentemente doenças. Antes do anos 2000, as ferramentas de manipulação e edição genética existentes, embora viáveis, eram pouco eficientes ou muito laboriosas (DOUDNA & CHARPENTIER, 2014).

No início da década de 2000, estudos sobre o sistema de defesa de bactérias contra bacteriófagos levou a descoberta das Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Inter espaçadas (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) ou CRISPR, sistema de defesa adaptativo de bactérias e arqueias, em que sequências de material genético viral ou plasmidial, tornando-se análogo a uma espécie de “memória” de invasões anteriores. As CRISPRs podem ser traduzidas em pequenas sequências de Ácido Ribonucleico (RNA) que se associam a enzimas denominadas *CRISPR associated proteins* (Cas). O sistema CRISPR identifica sequências de DNA complementares ao material genético previamente modificado por infecções anteriores e a enzima nuclease associada, Cas9, faz a clivagem do DNA (BARRANGOU & HORVATH, 2012). Embora apresentem mecanismos de atuação semelhantes, existe uma imensa variedade nos sistemas CRISPR/Cas com especificidades e características distintas. Isso se deve a vasta variabilidade genéticas de bactérias e arqueias e a constante coevolução delas e seus nêmeses, os bacteriófagos (ROSSI & ALMEIDA, 2010).

Em decorrência das grandes mudanças tecnológicas, surgiram, principalmente no final do século XX, movimentos filosóficos que buscam entender os impactos e estimular ou conter a implementação desses avanços. Dentre as ramificações desses pensamentos, está o transumanismo, movimento intelectual que tem como premissa analisar e melhorar a condição humana a partir do uso de ciência e tecnologia para otimizar a capacidade cognitiva e superar limitações físicas e psicológicas humanas, defendendo alterações nas estruturas biológicas que permitam reduzir o sofrimento, não só entre humanos, mas entre todos os seres vivos (MORE, 1990).

O presente trabalho teve como principal descrever o tratamento de doenças por meio da edição genica através do sistema CRISPR/Cas, os seus possíveis desdobramentos filosóficos e consequências para saúde pública, tentando desmistificar a edição genica e seu uso.

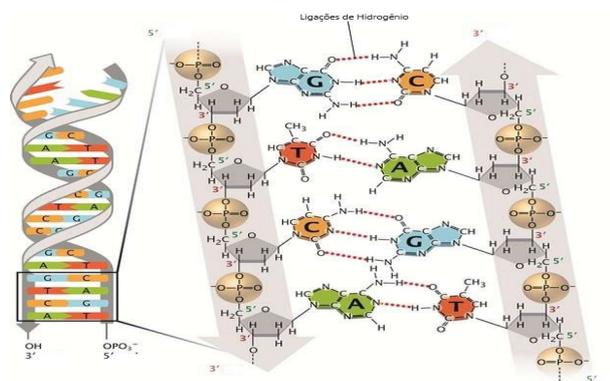
## 2 | OS ÁCIDOS NUCLEICOS E A INFORMAÇÃO GENÉTICA

### 2.1 O material genético e a hereditariedade

Por muito tempo, acreditou-se que as informações hereditárias eram transmitidas através das proteínas, uma vez que apresentavam estruturas complexas quando comparadas aos ácidos nucleicos. Na década de 1940, alguns experimentos foram realizados, gerando questionamentos sobre a teoria das proteínas como propagadoras das informações genéticas. Com o teste realizado com a bactéria da espécie *Pneumococos* foi possível identificar mecanismos e moléculas relacionados ao processo de transformação bacteriana, isto é, capacidade em assimilar características de outras bactérias mortas. Com a cepa específica de *Pneumococos* que sintetizava uma cápsula bacteriana, foi realizado a separação de seu extrato

celular em proteínas, DNA, RNA, lipídeos e carboidratos. Cada uma desses produtos foi adicionada a culturas de outra cepa de Pneumococos que não produzia a cápsula. O resultado mostrou que apenas a fração contendo DNA possibilitou a recuperação da capacidade bacteriana em formarem a cápsula, inferindo-se que o DNA desempenhava um papel imprescindível na formação e transmissão de características (WATSON *et al.*, 2015).

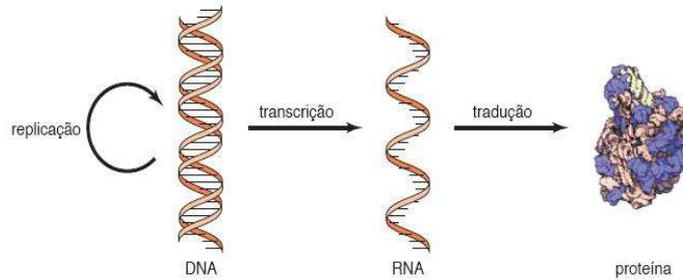
A estrutura química da molécula de DNA é composta por uma dupla fita, antiparalela, helicoidal formada por um extenso polímero de nucleotídeos. A cadeia principal é formada por moléculas de pentose (desoxirribose) e fosfato intercalados e unidos por ligações covalentes do tipo fosfodiéster. A molécula da pentose está ligada aos compostos cíclicos contendo nitrogênio, as chamadas bases nitrogenadas, as quais fazem a ligação entre uma fita e sua fita complementar através de pontes de hidrogênio (Figura 1). Existem quatro tipos de bases nitrogenadas na molécula de DNA a Timina (T), Adenina (A), Guanina (G) e Citosina (C).



**Figura 1: A estrutura bioquímica da molécula de DNA.** O DNA é composto por unidades fundamentais denominadas nucleotídeos, estrutura composta por um grupamento fosfato, uma pentose e uma base nitrogenada. É uma molécula dupla fita, antiparalela, helicoidal, ligadas entre si por pontes de hidrogênio.

Fonte: imagem adaptada a partir do site Biophilia: <https://bit.ly/2rfPGYV>

O DNA é uma molécula muito longa que se associa a proteínas, histonas, gerando um complexo DNA-Proteína chamado de cromatina, com diferentes estados de compactação. A cromatina em seu estado mais compactado é chamada de cromossomo (DE ROBERTIS & HIB, 2006). O DNA é uma estrutura replicante e também capaz de ser transcrito em fita de RNA que, por sua vez é traduzida em cadeias polipeptídicas que darão origem às proteínas (dogma central da biologia molecular) (WATSON *et al.*, 2015). Assim, o DNA é uma molécula que contém o código de síntese para as estruturas que direta ou indiretamente compõe os seres vivos (Figura 2).



**Figura 2: Dogma central da biologia molecular.** O fluxo das informações genéticas: uma molécula de DNA pode se replicar gerando cópias idênticas de si mesma, pode ser transcrita em uma molécula de RNA que por sua vez é traduzida em uma proteína.

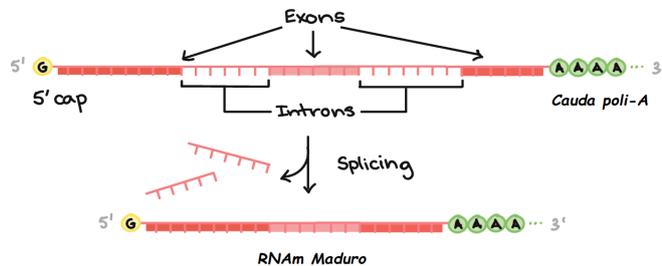
Fonte: imagem adaptada a partir do site <https://bit.ly/2QcjcT>

A replicação é a capacidade de duplicação do DNA sintetizando cópias de si mesma. Para que ocorra a duplicação do DNA é necessária a separação das duas fitas originais, chamadas de fitas parentais e a síntese de duas novas fitas, tendo as parentais como molde. O processo de replicação é, um processo semiconservativo, uma vez que cada nova fita de DNA contém uma fita parental e uma fita recém-sintetizada (WATSON et al., 2015).

O processo de transcrição corresponde ao DNA como molde para a síntese de uma fita de RNA, . O RNA também é polímero de nucleotídeos que tem sua cadeia principal composta por moléculas de pentose ribose e fosfato intercaladas e unidos por ligações fosfodiéster, além de bases nitrogenadas ligadas a molécula de pentose. A base nitrogenada uracila (U) substitui a timina (T) presente no DNA (DE ROBERTIS & HIB, 2006). Nos eucariotos, o RNA geralmente tem uma estrutura em forma de fita simples, enquanto que em alguns vírus essa molécula pode apresentar estrutura de dupla fita. Existem 3 tipos principais de RNA, o RNA ribossômico (RNAr) que origina os ribossomos, organelas citoplasmáticas que atuam na síntese de proteínas, o RNA transportador (RNAt), que transportam os aminoácidos até o ribossomo e o RNA mensageiro (RNAm) que guia na ordem de encaixe dos aminoácidos para a síntese de proteína. A síntese de proteína, tradução, corresponde a última etapa de transferência da informação contida no DNA (WATSON *et al.*, 2015).

Nos eucariotos a molécula de RNA é inicialmente sintetizada em um estado “imaturo” que é processado para gerar uma sequência de códons que sintetizam proteínas funcionais. O processamento da molécula de RNA é composto por três etapas, a adição de CAP, o splicing e a adição da cauda poliA (Figura 3). A adição do CAP ocorre após o início da síntese do RNAm e tem como funções a proteção contra a ação de enzimas que clivam o RNA, a interação com complexos proteicos que exportam esse RNAm para o citosol da célula e o acoplamento da molécula de RNAm no ribossomo. O processo de *splicing* consiste na retirada de sequências de nucleotídeos não codificadores, os introns, e a ligação de sequências codificadoras, os exons. A adição da cauda poliA corresponde a incorporação de uma sequência

de nucleotídeos de adenina na porção 3' do RNA, que, apesar de sua função ainda ser pouco compreendida, especula-se que possivelmente atue no aumento da estabilidade da molécula e evite sua degradação precoce. Após o processamento, o RNAm maduro atravessa os poros nucleares, deslocando-se para o citoplasma, onde desempenha a função de síntese proteica.



**Figura 3: Processo de Splicing.** Processamento do RNAm após sua transcrição, com a retirada que regiões não codificantes, os introns e a união das regiões codificantes, os exons, para a produção de um RNAm funcional.

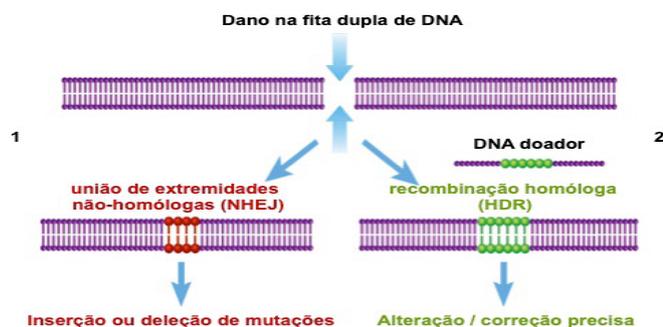
Fonte: imagem adaptada a partir do site Medical Xpress <https://bit.ly/2Qz5Af2>

## 2.2 Danos e os mecanismos de reparo do material genético

Como o DNA é código fundamental da vida e contém todas as informações necessárias para o desenvolvimento de organismos, a manutenção da sua integridade é fundamental para o perfeito funcionamento do metabolismo dos seres vivos. Entretanto, modificações e danos ao DNA, relativamente comuns durante o ciclo celular, são capazes de ocasionar mutações ou disfunções, gerando alterações metabólicas e estruturais que comprometem o funcionamento do organismo. Os danos ao material genético são causados por diversos fatores como radiações, substâncias químicas, radicais livres, infecções virais, fatores endógenos, entre outros. Os danos induzem mecanismos de resposta celular que visam a correção do erro e reparo do material genético, ou a ativação de mecanismos apoptóticos, caso a lesão seja irreversível ou potencialmente maléfica (SANCAR *et al.*, 2004).

As lesões no DNA ocorrem por danos a uma única fita do DNA, denominadas de danos à fita simples (*single strand break* – SSB) ou por danos à dupla fita de DNA (*double strand break* – DSB). Os mecanismos de reparo de SSB usam a fita complementar como molde para correção da fita danificada e podem ser feitos pela excisão da base nitrogenada (BER – *Base excision repair*) ou do nucleotídeo (NER – *Nucleotide excision repair*) (LISTIK & CARMO, 2016). Os DSB possuem maior potencial de comprometer a estabilidade celular e podem ocorrer por a união de extremidade não-homóloga (NHEJ – *Non-homologous end joining*) ou por recombinação homóloga (HDR – *homologous recombination*). No NHEJ, principal mecanismo de reparação de DSB em mamíferos, as extremidades de quebra são ligadas diretamente, sem a necessidade de molde da região homóloga ao DNA, tornando o processo mais rápido. Entretanto, a região de ligação tem a sequência de

nucleotídeos alteradas, o que pode causar deleções ou inserções de nucleotídeos (MOORE & HABER, 1996). A HDR é mais precisa, pois utiliza uma sequência idêntica ou similar localizada no cromossomo homólogo para o reparo da quebra, diminuindo a ocorrência de mutações (Figura 4).



**Figura 4: Mecanismos de Reparo a Danos da Fita Dupla do DNA.** O dano na fita dupla de DNA pode ser reparado pela (1) união de extremidade não-homóloga (NHEJ), onde as extremidades de quebra são ligadas diretamente sem a necessidade de molde da região homóloga ao DNA, podendo causar deleções ou inserções de nucleotídeos ou (2) pela recombinação homóloga (HDR), que utiliza uma sequência idêntica ou similar de DNA (DNA doador) como direcionamento para o reparo da quebra, diminuindo a ocorrência de mutações.

Fonte: imagem adaptada a partir do site Medical Xpress <https://bit.ly/2Go1111>

## 2.3 Expressão Gênica

Um gene, sequência específica de nucleotídeos na molécula de DNA, contém as informações necessárias para a produção do RNA e conseqüentemente para a síntese de uma proteína. O processamento de um gene para a síntese de um composto funcional é chamado expressão gênica. O gene é a unidade fundamental da hereditariedade e o conjunto deles em uma espécie é chamado de genoma. A expressão desse genoma sob a influência o meio ambiente é chamado de fenótipo (WATSON *et al.*, 2015).

Em um mesmo organismo, embora todas as células possuísse o mesmo genoma, a sua expressão não ocorre de modo homogêneo, possibilitando que células de diferentes linhagens expressem distintas proteínas, gerando diversas morfologias e especializações. A regulação da expressão dos genes possibilita o ajuste das células às alterações ambientais e adequarem seu metabolismo às necessidades geradas pelo meio onde se encontram, permitindo que uma célula gere respostas diferentes a um mesmo estímulo, ou ainda expresse determinados genes e não outros. Dessa forma, uma célula consegue controlar as proteínas que produz controlando como e quando um determinado gene deve ser expresso (WATSON *et al.*, 2015). O controle e regulação da expressão dos genes podem ocorrer por diferentes processos, como o grau de compactação da cromatina. Quando a cromatina está pouco condensada (eucromatina), o DNA está frouxo e pode ser facilmente transcrito. A cromatina condensada (heterocromatina), não pode ser transcrita e os eucariotos têm proteínas que conseguem facilitar ou bloquear o acesso de enzimas a essa região, modulando o processo de transcrição (WATSON *et al.*, 2015). O *splicing* também é um processo

que auxilia na regulação da expressão gênica. Um mesmo gene pode gerar proteínas distintas de acordo com o tipo de célula que se encontra, pois no momento do *splicing* remove-se introns e exons diversos, produzindo proteínas diferentes. Outro fator que regula a expressão dos genes é a translocação do RNAm do núcleo para o citoplasma, influenciando a tradução de proteínas. A regulação gênica pode ocorrer através de alguns processos que inibem ou estimulam o acoplamento do RNAm ao ribossomo, podendo impossibilitar a tradução ou produzir de substâncias que degradem e inativem o RNAm antes que ele seja traduzido (WATSON *et al.*, 2015).

## 2.4 Epigenética

Todas as células do organismo humano se desenvolvem de uma única célula primordial, o zigoto, que contém toda a informação que dará origem aos diferentes tipos celulares que compõe tecidos, órgão e sistemas. O controle e modulação da expressão dessas informações desde a concepção até a maturação do organismo é muito importante. Como a variação e a especialização das expressões do genoma não são inteiramente explicadas pelos processos genéticos devido a não há alteração no DNA, surgiu, em 1942, o conceito de epigenética, por Conrad H. Waddington (VIEIRA, 2017). A epigenética, “acima do genoma”, estuda as mudanças na expressão de genes e as possíveis alterações na funcionalidade de uma célula que não envolvem a alteração da sequência nucleotídeos da molécula de DNA, mas que envolvem modificações na estrutura da cromatina decorrentes da interação do indivíduo com fatores externos a ele, como o ambiente, a alimentação, o estresse, as infecções, entre outros. Tais alterações são suscetíveis a reversão e mesmo sem alterar o DNA, as características epigenéticas podem ser herdáveis (ELSNER & SIQUEIRA, 2016).

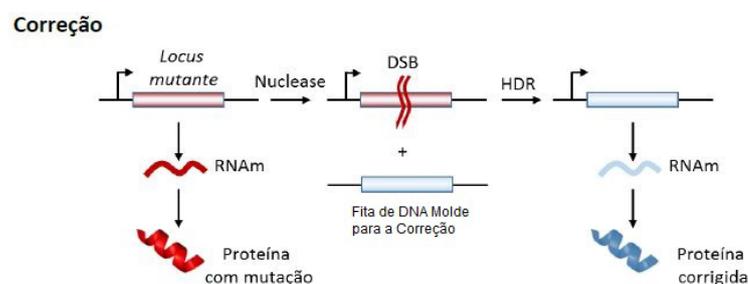
A regulação epigenética está associada principalmente a três mecanismos são eles a metilação do DNA, as modificações nas histonas e a atuação de RNA's não codificantes. A metilação do DNA consiste na substituição de um átomo de hidrogênio na molécula de citosina, por um grupo metil. Essa substituição ocorre em regiões promotoras do DNA e impossibilita a atuação de fatores de transcrição e enzimas que polimerizam as moléculas de RNA (VIEIRA, 2017). As histonas, proteínas nas quais o DNA se enovela, são de cinco tipos, H1, H2A, H2B, H3 e H4 e associam-se em pares formando um octâmero. As histonas ligam-se a cada 147 pares de bases de DNA, formando um nucleossomo. As histonas têm uma região terminal, conhecida também como cauda, rica em lisina e arginina, apresentando carga oposta ao DNA o que possibilita o seu enovelamento. Mecanismos epigenéticos podem promover alterações na cauda dessas proteínas, modulando a condensação da cromatina e por consequência, a acessibilidade ao DNA, implicando em uma maior ou menor transcrição de regiões gênicas (MULLER & PRADO, 2009). A produção de RNAs não codificantes envolve a síntese de pequenas moléculas de RNA que não codificam proteínas, também conhecidos como microRNAs (miRNA).

Essas moléculas são capazes de reprimir o processo de tradução, ou em caso de homologia e complementariedade das fitas, parear-se com moléculas de RNAm resultando em sua degradação precoce, processo conhecido como silenciamento gênico (VIEIRA, 2017).

### 3 | OS MECANISMOS MOLECULARES DE EDIÇÃO DO GENOMA

As ferramentas de edição genética utilizam nucleases, enzimas capazes de romper as ligações entre os nucleotídeos, que possam ser programadas para cortar trechos específicos do material genético (HOTTA & YAMANAKA, 2015). Tais ferramentas realizam quebras na dupla fita de DNA, ativando mecanismos de reparo como HDR, reparo por homologia ou por NHEJ, junção de extremidades não homologas.

O HDR utiliza um molde de DNA pré-existente para reparar a fita danificada. Dessa forma a introdução de uma molécula de DNA com transgenes específicos pode ser empregada na DSB alvo para corrigir a funcionalidade de um gene mutado (Figura 5).



**Figura 5. Correção de um gene mutante utilizando Recombinação Homóloga Direcionada (HDR) e uma fita de DNA molde.** Em uma célula que possui o Locus mutante há a transcrição de um RNAm alterado e consequentemente uma proteína com mutação. Para a correção desse gene mutante é realizada uma quebra na dupla fita de DNA (DSB) e inserido uma fita de DNA molde para correção.

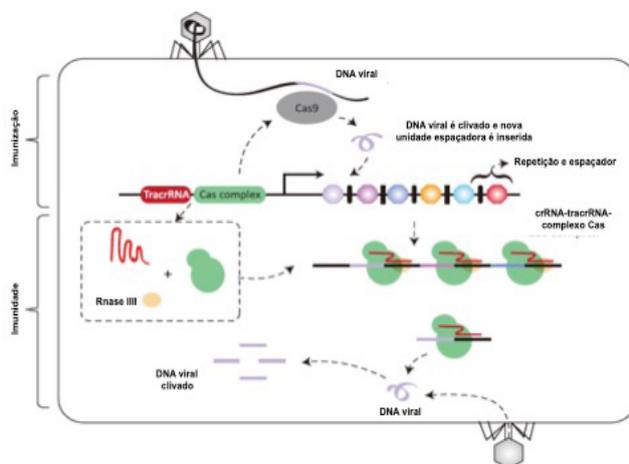
Fonte: adaptado de LISTIK & CARMO, 2016.

O reparo por NHEJ está associado à ligação direta da região de DBS. Esse tipo de reparo é altamente mutagênico, gerando principalmente deleções e inserções, os chamados indels (LIEBER *et al.*, 2003). As características do NHEJ podem ser utilizadas para indução das mutações pontuais, deleção de sequências indesejáveis, adição de códons específicos, como códons de parada, possibilitando o *knock out* de tais genes (LISTIK & CARMO, 2016).

#### 3.1 Sistema CRISPR/Cas

O sistema CRISPR/Cas9 é um mecanismo de defesa das bactérias e Archaea contra elementos genéticos invasores de bacteriófagos e outros plasmídeos (Figura 6). O material genético exógeno é clivado, fragmentado em pequenas frações e incorporado a locus do CRISPR (DOUDNA & CHARPENTIER, 2014). Quando há

novamente contato com o material genético exógeno, o sistema CRISPR identifica trechos de DNA de infecções anteriores. Assim a endonuclease associada, Cas9, cliva o material genético invasor impedindo sua replicação (BARRANGOU & HORVATH, 2012).



**Figura 6: Mecanismo de Atuação do sistema CRISPR em bactérias e Arqueas.** 1) Imunização: reconhecimento e clivagem de elementos genéticos invasores (DNA viral) e incorporação de novas unidades espaçadoras ao locus do CRISPR. 2) Imunidade: Os espaçadores podem ser traduzidos em pequenas sequências de RNA (TracrRNA) que se associam ao complexo de enzimas Cas. Assim, o sistema CRISPR identifica trechos de DNA complementares ao material genético previamente integrado, de infecções anteriores, e a enzima nucleasa associada Cas9 faz a clivagem do DNA viral em uma sequência precisa impedindo a propagação do DNA exógeno.

Fonte: GENSCRIPT, 2015.

#### 4 | CRISPR NO TRATAMENTO DE DOENÇAS GENÉTICAS E EPIGENÉTICAS

A medicina define patologia ou doença os distúrbios, alterações ou desajustes na funcionalidade de um grupo celular, tecido, órgão ou sistema do organismo, associados a sinais e sintomas definíveis e específicos. As doenças genéticas são um grupo de disfunções que resultam da modificação de uma sequência de nucleotídeos em uma parte do DNA que, direta ou indiretamente, causam alterações fisiológicas ou anatômicas, trazendo prejuízo ao organismo. Esse grupo de doenças pode estar associado a um gene, um grupo de genes ou ainda na forma de expressão de determinados genes ao longo da vida. Vale salientar que nem toda doença genética é herdada, podendo ser causada por diversos fatores como radiação, infecção, má alimentação, estresse entre outros (ZAHA, FERREIRA & PASSAGLIA, 2014).

A tecnologia CRISPR-Cas9 vem sendo amplamente estudada e utilizada em terapias genicas e consiste na introdução deleção ou modificação de genes prejudiciais, tendo, em testes em modelo animal e em cultura de células, mostrado resultados bastante positivos no tratamento e cura de várias doenças relacionadas com alterações genicas.

## 4.1 Acondroplasia

A Acondroplasia (ACH) é um distúrbio genético autossômico dominante que gera um desenvolvimento anormal dos tecidos ósseos afetando a ossificação endocondral, processo que acelera a ossificação das cartilagens, impossibilitando o crescimento normal dos ossos longos. A ACH caracteriza-se fenotipicamente por um nanismo desproporcional, membros curtos, tronco normal, macrocefalia, as mãos são pequenas e largas, e os dedos curtos com separação entre a terceira e quartas falanges, podendo apresentar inúmeras complicações (CERVAN *et al.*, 2008). A ACH é o tipo mais comum de nanismo no mundo e sua incidência é estimada em 1 a cada 25.000 nascidos vivos (HORIE *et al.*, 2017). A maior parte dos indivíduos com essa disfunção apresenta mutação no gene *FGFR3*, que leva a substituição do aminoácido glicina pelo aminoácido arginina no receptor de crescimento fibroblástico 3, gerando uma superatividade dessa enzima e resultando em uma condrodisplasia, em geral em cartilagens epifisárias, que alteram, por consequência, o crescimento linear dos ossos (DENG *et al.*, 1996).

Na tentativa de identificar possíveis tratamentos para a ACH, fibroblastos de indivíduos acondroplásicos adultos foram induzidas para se tornassem células troncos pluripotentes induzidas (iPS). Essas células iPS foram separadas em 2 grupos, um sem nenhuma alteração genética (grupo controle), e outro com a edição no gene *FGFR3* usando a CRISPR/Cas9. Após a introdução das iPS modificadas com o CRISPR, houve a eliminação do alelo dominante *FGFR3* e a redução da hiperatividade das enzimas *FGFR3*, quando comparados com o grupo controle o que possibilitou o desenvolvimento normal do tecido (HORIE *et al.*, 2017). Esse estudo provou que é possível impedir que o gene mutante *FGFR3* se manifeste.

## 4.2 Distrofia de Duchenne

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é uma alteração genética hereditária ligada ao cromossomo sexual X. Esse distúrbio impede a produção de uma proteína muscular chamada distrofina cuja função exata ainda é desconhecida. Porém, a hipótese mais aceita é que ela tenha um papel relacionado à integridade, estabilidade e alinhamento da membrana plasmática e das miofibrilas durante a contração e relaxamento muscular. A ausência da distrofina possivelmente gera alterações no sarcolema, provocando aberturas que possibilitam a livre passagem de cálcio para o interior da célula muscular levando a necrose e perda da capacidade contrátil da fibra (MORAES, FERNANDES & ACOSTA, 2011).

A DMD, doença recessiva localizada no braço curto do cromossomo X, afeta principalmente homens, pois neles há apenas uma cópia do cromossomo X. A incidência é de um com a síndrome a cada 3.500 meninos nascidos vivos. As manifestações clínicas, em geral, só são observadas quando a criança começa a andar. As alterações iniciam-se com o gradual enfraquecimento muscular, que se

torna evidente por volta dos cinco anos de idade, resultando em uma dificuldade de manutenção da marcha, quedas recorrentes e um andar característico de acentuado balanço do corpo durante o caminhar, devido a atrofia da musculatura do quadril impedindo o nivelamento da pelve (SANTOS *et al.*, 2006). A progressão da DMD, por volta dos 10 a 13 anos de idade, leva a impossibilidade de o paciente andar sendo necessário o uso de cadeira de rodas para a locomoção. À medida que a doença avança surge insuficiência respiratória e a dificuldade na ventilação, sendo necessário o uso de aparelhos para o restabelecimento dessa função. Nesse estágio, tornam-se comuns infecções respiratórias, principais causa de morte de paciente nesse estado (SANTOS *et al.*, 2006). Os pacientes com sobrevida maior acabam tendo a musculatura cardíaca acometida. Os pacientes com DMD acabam evoluindo a óbito por volta dos 18 a 25 anos pelo comprometimento cardíaco ou insuficiência respiratória (MORAES, FERNANDES, & ACOSTA, 2011).

Utilizando a técnica de edição genica CRISPR/Cas9 foi possível, em modelo canino, impossibilitar a progressão da DMD, restabelecendo a produção de distrofina cardíaca a níveis superiores a 90% (AMOASII, 2018), além disso, obteve resultados similares com distrofina produzida pela musculatura esquelética. A pesquisa levanta grandes expectativas com relação a futuros tratamentos para a doença (GONÇALVES *et al.*, 2017).

### 4.3 Talassemia beta

A talassemia beta é uma doença sanguínea, de origem genética, caracterizada por uma anormalidade na produção de hemoglobina (Hb), uma proteína globular quaternária que atua na captação e transportes de moléculas gasosas, principalmente o oxigênio. A talassemia ocorre em variados graus com alterações na síntese das cadeias de globina betas e as alterações podem resultar em pacientes completamente assintomáticos até pacientes com severas complicações (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). O desequilíbrio entre a quantidade de globinas alfas e betas, devido a menor produção das globinas do tipo beta, faz com que o excesso de globinas alfa livres se precipite formando agregados proteicos que causam alterações morfo-fisiológicas, levando a lesões na membrana plasmática da hemácia. Quando essas células atingem o sangue periférico essas alterações sinalizam para que ocorra o sequestro e destruição dessas células pelo baço, podendo desencadear um quadro de anemia hemolítica e a evolução para uma crise aplásica da medula (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Através da utilização do CRISPR em células iPS de pacientes beta talassemicos, foi possível corrigir de forma eficiente as mutações nos genes da globina beta, restaurando a sua expressão. Nenhuma alteração fora do alvo (*off-target*) foi observada e as iPS alteradas exibiam o cariótipo normal (XIE *et al.*, 2014). Os resultados obtidos mostraram a possibilidade de tratamento da  $\beta$ -talassemia utilizando terapias

baseadas no CRISPR. Outra possibilidade é a modificação de culturas celulares do próprio paciente fornecendo uma fonte de células para transplante ou transfusões sanguíneas, que não gerariam os efeitos adversos das transfusões normais (XIE *et al.*, 2014).

#### 4.4 Hepatite

A hepatite, caracterizada pela inflamação de hepatócitos, pode ser causada por diferentes fatores etiológicos como infecções virais ou substâncias tóxicas (álcool, drogas, medicamentos). As hepatites virais, principalmente HBV e HCV, são um grave problema de saúde pública brasileira e em seu curso natural a doença pode levar ao surgimento de cirrose e câncer hepático, sendo muito comum a necessidade de transplante (FERREIRA, 2000).

A hepatite B (HBV) é causada por um vírus com genoma de DNA e envelopado, dificultando a sua remoção utilizando as terapias convencionais. Além disso, o vírus pode ficar longos períodos latentes e se reativar. Estudos recentes com o sistema CRISPR-Cas9 alterando o DNA viral mostraram a diminuição da expressão de antígenos marcadores da replicação viral do HBV (AgHBe) (SEEGER & SOHN, 2014). Testes utilizando iPS e edição genética mostraram a possibilidade de restabelecer a função hepática repovoando o fígado com hepatócitos saudáveis, através da utilização do CRISPR para modificar sequências de genes de iPS, convertendo-as em hepatócitos. Essas células, além de saudáveis, possuíam ainda um RNA de interferência específico contra o HBV o que gerou uma resistência dessa população celular contra a hepatite B. O estudo se mostrou promissor e em poucos testes foi possível restabelecer a função hepática a níveis normais (KAY, 2011).

#### 4.5 HIV

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um retrovírus com genoma de RNA, que possui a enzima, a transcriptase reversa capaz de transcrever a molécula de RNA viral em DNA para permitir a integração ao genoma do hospedeiro. Sua principal forma de transmissão é sexual, embora possa ser transmitido por via sanguínea e congênita. O vírus tem tropismo por linfócitos T CD4+, grupo de linfócitos capaz de mediar, modular e regular a resposta imune, podendo atuar na ativação e no recrutamento de células fagocíticas e induzir a troca de classes e a produção de imunoglobulinas pelos linfócitos B. Dessa forma o aumento da destruição desse tipo celular leva a maior vulnerabilidade do sistema imune e o surgimento de infecções oportunistas que podem levar o paciente a óbito. A principal forma de tratamento do HIV é a administração conjunta de vários antirretrovirais, no intuito de diminuir ou retardar a replicação e propagação viral, limitar o surgimento de cepas resistentes aos medicamentos e impedir a redução dos linfócitos auxiliares. Apesar da eficácia dos agentes antirretrovirais de impedir a replicação do vírus em diferentes fases do

seu ciclo, o HIV é capaz de gerar reservatórios latentes através de sua integração ao genoma celular. Dessa forma, mesmo que a carga viral do paciente seja extremamente baixa, o tratamento com antirretrovirais deve ser mantido por toda a vida. Entretanto, a terapia antirretroviral apresenta efeitos adversos que estimulam a desistência do regime terapêutico, como náusea, vômito, diarreia, cefaleia, alterações cardiovasculares, hematológicas e metabólicas.

Vários avanços foram mostrados com o CRISPR, levantando a possibilidade de novas formas de tratamento. Vários estudos em modelo animal e células humanas mostraram que utilizando o CRISPR é possível remover o DNA viral do HIV do genoma do hospedeiro com extrema precisão (KAMINSKI *et al.*, 2016). Alguns estudos demonstraram a possibilidade de modificar os genes codificantes do receptor quimiocina tipo 5, proteína da membrana celular que contém o principal sítio de ligação do vírus HIV com os linfócitos T, sem a produção dessa proteína o vírus não consegue infectar as células T (DENG *et al.*, 2018). A edição gênica usando o CRISPR Cas9 para modificar as células possibilitou que de duas crianças tornassem-se imune ao Vírus da Imunodeficiência Humana (NUNES & BATISTA, 2019). O uso do sistema CRISPR/Cas9 para clivar o HIV do genoma removeu os reservatórios latentes do vírus e impediu a reinfecção.

#### 4.6 Prevenção e tratamento de doenças infecciosas

Doenças infecciosas são causadas por vírus, fungos, bactérias ou parasitas e transmissíveis de uma pessoa para outra. A manipulação genica abre uma gama de perspectivas no que tange a esses tipos de doenças. Um dos principais problemas enfrentados atualmente no tratamento de infecções bacterianas é o desenvolvimento de microrganismos resistentes a antibióticos, denominadas superbactérias. Usando a adição da enzima Cas9 ao vírus, pesquisadores mostraram que é possível produzir bacteriófagos que atacam microrganismos super-resistentes. Dessa forma, durante a infecção bacteriana, a enzima Cas9 adicionada ao genoma viral é transcrita e cliva o DNA bacteriano em regiões pré-determinadas resultando na morte da bactéria (REARDON, 2017).

Ao utilizar o CRISPR, foi possível rastrear os genes responsáveis pela fertilidade em mosquitos *Anopheles* e desenvolver linhagens de mosquitos que podem suprimir e substituir a população natural de mosquitos, que são estéreis ou que gerem uma prole que não pode se reproduzir, controlando endemias e epidemias de dengue, zika e chikungunya.

#### 4.7 Tratamento do Câncer

Organismos multicelulares precisam constantemente replicar suas células a fim de reparar lesões, renovar tecidos ou para o crescimento corpóreo. Dessa forma, o processo de proliferação celular deve ser contínuo, controlado e autolimitado, variando de acordo com a necessidade fisiológica do indivíduo. Existem diversos

mecanismos para a verificação de erros celulares, levando as células defeituosas a um processo de morte programada, denominada a apoptose (INCA, 2011). Quando a células não responde corretamente aos estímulos apoptóticos e perde seu potencial de autolimitação há o descontrole proliferativo que pode levar a diversas disfunções orgânicas, como as neoplasias malignas (câncer), que podem invadir outros tecidos (metástase). As causas podem ser diversos fatores, como ambientais (substâncias químicas, radiação, infecções, hábitos alimentares, tabagismo) e genéticos (alteração em genes responsáveis pela síntese de enzimas de variadas vias metabólicas que transformam uma substância nocivas ao organismo em outra substância menos tóxicas e levam ao acúmulo de metabólitos que lesionam o material genético celular, em genes que regulam a estabilidade do genoma e do ciclo celular, em genes de sinalização e controle do desenvolvimento celular, vias apoptóticas e proliferação das células) (WARD, 2002). O tratamentos mais usado no combate ao câncer é a quimioterapia, utilização de fármacos isolados ou combinados, que busca eliminar, inibir ou dificultar a proliferação das células cancerígenas. Os diversos quimioterápicos variam quanto sua a ação farmacológica, toxicidade e efeitos colaterais (RIUL & AGUILLAR, 1999).

O desenvolvimento de quimioterápicos necessita da compreensão e conhecimento da resposta celular frente a um fármaco. Por meio da tecnologia do CRISPR diversos estudos estão buscando inibir ou aumentar a expressão de genes específicos a fim de identificar como essa alteração genética modificaria ou modularia a atuação dos quimioterápicos, identificando proteínas, vias metabólicas ou receptores alvos que sejam relevantes para o tratamento da doença (OKAMOTO, 2017).

A inibiram *in vitro* e *in vivo* genes de células de adenocarcinoma pancreático identificaram que a deleção de alguns genes aumenta a citotoxicidade de quimioterápicos inibidores de ativação de MEK (grupo de proteínas quinase que respondem a estímulos extracelulares para regular a diferenciação, proliferação e morte celular). O estudo também mostrou a utilidade da edição genética para criar alterações pontuais no genoma de células neoplásicas, possibilitando a compreensão de como mutações genéticas desconhecidas afetarão positiva ou negativamente a resposta celular para um determinado quimioterápico (SZLACHTA *et al.*, 2018).

## 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de novas tecnologias e metodologias, principalmente na área da medicina, biotecnologia e informática, tem possibilitado grandes avanços no entendimento de certas condições e tem trazido muitos benefícios relacionados à vida.

Uma tecnologia inovadora e promissora que tem sido destaque é a CRISPR-

Cas9, naturalmente encontradas no sistema de defesa imunológica em bactérias. O CRISPR-Cas9 tem como princípio a edição genica e conseqüentemente, modificação proteica, metabólica e de algumas características do organismo de forma rápida, econômica e eficiente (poucos efeitos *off-target*), portanto, considerada precisa e pontual. A CRISPR-Cas9 possibilita a inserção, remoção e correção de uma sequência mutada em uma molécula DNA de uma determinada célula com precisão. Dessa forma, a CRISPR tem sido usada em alterações genéticas como a correção de genes com mutações gênicas, a modulação da expressão gênica, a caracterização fenotípica de uma doença, no tratamento de doenças infecciosas e patologias, no desenvolvimento de culturas agrícolas resistentes a pragas ou a infecções, no aumento da imunidade viral em bactérias utilizadas na produção de alimentos, entre outras. Dessa forma, alterações na funcionalidade celular, tecidual ou sistêmica relacionadas, direta ou indiretamente, aos genes e suas expressões podem auxiliar na prevenção, no tratamento ou na cura de certas patologias. Alguns estudos mostram resultados promissores no tratamento de doenças monogênicas. Um exemplo é o desenvolvimento normal de cartilagens na acondroplasia, distúrbio genético com alteração da ossificação endocondral, cuja utilização da técnica CRISPR-Cas9 possibilitou hiperatividade das enzimas FGFR3, responsáveis pela anormalidade dos tecidos ósseos. Também se pode citar o retardamento na progressão da distrofia muscular de Duchenne, através do restabelecimento da produção de distrofina no músculo esquelético e cardíaco. O CRISPR também se mostrou promissor no tratamento de doenças hematológicas, a talassemia beta e a hemofilia, por meio da correção da mutação gênica causadoras dessas patologias e também a modificação de culturas celulares do próprio paciente fornecendo uma fonte de células para transplante ou enxerto. Ademais, essa metodologia CRISPR-Cas9 tem possibilitado a criação de organismos geneticamente modificados capazes de atacar e destruir sequências gênicas essenciais de microrganismos com elevada resistência a antibióticos bem como a diminuição do potencial patogênico e dissimulativo de artrópodes transmissores de doenças endêmicas como zika, dengue, chagas entre outras.

Embora o nível tecnológico atual possibilite a manipulação do genoma, ainda há a necessidade da continuidade de pesquisas, do desenvolvimento e aprimoramento das técnicas de edição genética principalmente devido ao surgimento de impactos associados com os avanços biotecnológicos a dessacralização do genoma e sua manipulação. Diversos debates éticos e filosóficos têm aparecido principalmente relacionados às filosofias transumanistas, movimento intelectual com a premissa analisar e melhorar a condição humana a partir do uso de ciência e tecnologia para otimizar a capacidade cognitiva e superar as limitações humanas. Tais ramos filosóficos esperam que a evolução biotecnocientífica seja marcada pela superação dos limites físicos, psicológicos, comportamentais e pelo aprimoramento de capacidades orgânicas, visando à longevidade e o bem-estar humano.

## REFERÊNCIAS

- AMOASII, L. et al. Gene editing restores dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. **Science**. v. 362, n. 6410, p. 86-91, 2018.
- BARRANGOU, R ; HORVATH, P. CRISPR: new horizons in phage resistance and strain identification. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p 143-162, 2012.
- BATISTA , F. C. C.; NUNES, C. P. ; **CRISPR CAS9: Atuais Aplicações No Tratamento Do HIV**. Revista de Medicina de Família e Saúde Mental, v. 1, n. 1, p. 89-94, 2019.
- CERVAN, M. P. et al. **Estudo comparativo do nível de qualidade de vida entre sujeitos acondroplásicos e não-acondroplásicos**. H Bras Psiquiatr, v. 57, n. 2, p. 105-111, 2008.
- CLARK, D. P. **Germs, Genes, & Civilization: How Epidemics Shaped Who We Are Today**. 1. ed. New Jersey: FT Press, 2010.
- CLARK, E.G; LEAVELL, H. R. **Medicina Preventiva**. 2. ed. São Paulo: McGraw-Hill, 1976. 744 p.
- DE ROBERTIS, E. D. P.; HIB, J. **Bases da biologia celular e molecular**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 394 p.
- DENG, C. et al. Fibroblast Growth Factor Receptor 3 Is a Negative Regulator of Bone Growth. **Cell**, v. 84, n. 6, p. 911-921, 1996.
- DENG, Q. et al. **Developmental progress of CRISPR/Cas9 and its therapeutic applications for HIV-1 infection**. Reviews in Medical Virology v. 28, n. 5, p. e1998, 2018.
- DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. **The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas**. Science, Washington, v. 346, n. 6213, p. 1258096, 2014.
- ELSNER, V. R.; SIQUEIRA, I. R. **Epigenética Aplicada À Saúde E À Doença**. Princípios Fundamentais Baseados Em Evidências Atuais. 1. ed. Porto Alegre: Editora Universitária Metodista, 2016. 136 p.
- FERREIRA, M. S. **Diagnóstico e tratamento da hepatite B**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical v. 33, n. 4, p. 389-400, 2000.
- GENSCRIPT. **CRISPR Handbook**. Enabling Genome Editing and Transforming Life Science Research. 2015.
- GONÇALVES, N. J. N. et al. Generation of LIF-independent induced pluripotent stem cells from canine fetal fibroblasts. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 92, p. 75-82, 2017.
- HORIE, N. et al. **Impairment of the transition from proliferative stage to prehypertrophic stage in chondrogenic differentiation of human induced pluripotent stem cells harboring the causative mutation of achondroplasia in fibroblast growth factor receptor 3**. Regenerative Therapy, v. 6, p. 15-20, 2017.
- HOTTA, A.; YAMANAKA, S. From Genomics to Gene Therapy: Induced Pluripotent Stem Cells Meet Genome Editing. **Annu Rev Genet**, v. 49, p. 47-70, 2015.
- INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. Rio de Janeiro: Serviço de Edição e Informação Técnico-Científica/CEDC, 2011.
- KAMINSKI, R. et al. **Elimination of HIV-1 Genomes from Human T-lymphoid Cells by CRISPR/**

**Cas9 Gene Editing.** Scientific Reports v. 6, p. 22555, 2016.

KAY, M. A. **State-of-the-art gene-based therapies:** the road ahead. Nature Reviews Genetics v.12, n. 5, p.316-328, 2011

LIEBER, M. R. et al. Mechanism and regulation of human non-homologous DNA end-joining. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, n. 9, p. 712-720, 2003.

LISTIK, E.; CARMO, A. C. V. As características dos mecanismos e sistemas de edição genômica. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz.** v. 10, 2016.

MALAJOVICH, M. A. M. **BIOTECNOLOGIA.** 2. ed. Rio de Janeiro: Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar. 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (Brasil). **ORIENTAÇÕES PARA O DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DAS  $\beta$ -TALASSEMIAS.** 2016. Disponível em: <<https://bit.ly/1swTLWM>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

MOORE, J. K.; HABER, J. E. **Cell cycle and genetic requirements of two pathways of nonhomologous end-joining repair of double -strand breaks in *S. cerevisiae*.** Molecular and Cellular Biology . v. 16, n. 5, p. 2164-2173, 1996.

MORAES, F. M.; FERNANDES, R. C. S. C.; ACOSTA, E. M. Distrofia Muscular de Duchenne: Relato de caso. **Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos.** v. 6, n. 2, p. 11-15, 2011.

MORE, M. Transhumanism: toward a futurist Philosophy, 1990. Disponível em: < <http://www.metanexus.net/essay/h-true-transhumanism> >. Acesso em: 18 nov. 2018

MULLER, H. R.; PRADO, K. B. EPIGENETICS: A NEW GENETIC FIELD. **Revista Universitária de Biologia e Saúde**, v. 1, n. 3, p. 61-69, 2009.

NGUYEN, T. H. et al. Successful correction of hemophilia by CRISPR/Cas9 genome editing in vivo. **EMBO Molecular Medicine**, v. 8, n. 5, p. 439-441, 2016.

OKAMOTO, O.K. IMPACTOS DA NOVA TÉCNICA DE EDIÇÃO DE GENOMAS CRISPR-CAS9 NA CIÊNCIA E NA SOCIEDADE, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. **CRISPR- Cas9 e Tratamento de Tumores** 2017.

RIUL, S.; AGUILLAR , O. M. **QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA:** Revisão Da Literatura. Revista Mineira de Enfermagem. v. 3, n. 1/2, p. 60-67, 1999.

ROSSI, L. P. R.; ALMEIDA, R. C. C. Bacteriófagos para controle de bactérias patogênicas em alimentos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz.** v. 69, n. 2, p. 151-156, 2010.

SANCAR, A. et al. **Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints.** Annual review of biochemistry. v. 73, n. 1, p. 39-85, 2004.

SANTOS, N. M. et al. Perfil clínico e funcional dos pacientes com Distrofia Muscular de Duchenne assistidos na Associação Brasileira de Distrofia Muscular. **REVISTA NEUROCIÊNCIAS**, v. 14, n. 1, p. 15-22, 2006.

SEEGER , C.; SOHN , J.A. **Targeting Hepatitis B Virus With CRISPR/Cas9.** Molecular Therapy: Nucleic Acids , v.3. p.e216, 2014.

SZLACHTA, K. et al. **CRISPR knockout screening identifies combinatorial drug targets in pancreatic cancer and models cellular drug response.** Nature communications, v. 9: n. 1, p.4275, 2018.

VIEIRA, G. C. ADMIRÁVEL MUNDO NOVO: A EPIGENÉTICA. In: ARÁUJO, L. A. L. **Evolução Biológica**: da pesquisa ao ensino. Porto Alegre: Editora Fi, 2017.

WARD, L. S. **Entendendo o Processo Molecular da Tumorigênese**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. v. 46, n. 4, p. 351-360, 2002.

WATSON, J.D et al. **Biologia Molecular do Gene**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 917 p.

XIE, F. et al. **Seamless gene correction of b-thalassemia mutations in patient-specific iPSCs using CRISPR/Cas9 and piggyBac**. Genome Research, v. 24, n. 9, p. 1526-1533, 2014.

ZAHA, A.; FERREIRA, H. B.; PASSAGLIA, L. M. P. (Org.). **Biologia molecular básica**. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2014. 424 p.

## ESTRATÉGIAS CIRÚRGICAS QUE PROMOVEM A REGENERAÇÃO DO NERVO PERIFÉRICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

**Pedro Walisson Gomes Feitosa**  
**Tatianne Régia Gomes Ribeiro**  
**Estelita Lima Cândido**  
**João Antônio da Silva Neto**  
**Esther Barbosa Gonçalves Felix**  
**Janaina Carneiro Lima**  
**Hellen Karen Almeida Pereira**  
**Iago Sávyo Duarte Santiago**  
**Yasmin de Alencar Grangeiro**  
**Maria Stella Batista de Freitas Neta**  
**Maria Andrezza Gomes Maia**

**RESUMO:** Realizamos uma revisão sistemática sobre técnicas cirúrgicas na regeneração de nervos periféricos. Foram realizadas pesquisas no banco de dados da PUBMED, além de buscas manuais nas referências de estudos publicados. Artigos publicados entre 2008 e 2018 e indexados foram selecionados para este trabalho de revisão. O período de busca dos artigos ocorreu entre 10 de janeiro de 2018 e 20 de fevereiro de 2018. A estratégia de busca utilizada foi a partir das palavras-chave: “Techniques of therapeutic”, “Surgical”, “Regeneration”, “Peripheral nerve”, sendo incluídos, também, os seguintes limites: artigos em português, inglês e espanhol, disponíveis na íntegra. Foram excluídos artigos de revisão, relatos e séries de casos, bem como comentários de literatura, editoriais, revisões, comunicações

e cartas ao editor. Dentre os 2.154 artigos identificados inicialmente na busca eletrônica, apenas 34 artigos foram incluídos na amostra final após os testes de relevância e análise criteriosa na íntegra. Concluiu-se que as técnicas de regeneração por autoenxertos, aproximação de cotos com próteses sintéticas, estimulação elétrica e construção tecidual por células-tronco apresentam resultados satisfatórios na regeneração nervosa em curtos períodos de recuperação, divergindo quanto às amostras estudadas e tempo em meses de análise tecidual. Dessa forma, fazem-se necessárias mais pesquisas para o desenvolvimento de novos modelos de regeneração do nervo periférico.

### INTRODUÇÃO

Em os estudos histológicos, os feixes de fibras nervosas encontrados no sistema nervoso periférico são chamados de nervos periféricos (SNELL et al., 2011). Em sua organização, essas fibras são divididas em feixes paralelos de diferentes espessuras e separados por bainhas de tecido conjuntivo. Tais estruturas nos nervos mais calibrosos formam: o epineuro, que é a estrutura mais superficial do nervo e se continua com o tecido conjuntivo dos órgãos próximos; o perineuro,

formado por células alongadas que revestem os fascículos nervosos para protegê-los da entrada de macromoléculas e de agentes agressivos; e o endoneuro, localizado entre os prolongamentos nervosos individuais, sendo um tecido delicado e rico em fibras reticulares (SNELL et al., 2011).

No neurônio que sofre lesão axonal focal grave são iniciados processos degenerativos, conhecidos como degeneração Walleriana (DW), consistindo em alterações no corpo celular, no segmento proximal (coto proximal) ao pericário e no segmento distal (coto distal), separado do corpo celular, enquanto a parte distal sofre degeneração, a parte proximal promove a regeneração (WALLER, 1850; SNELL et al., 2011). O pericário sofre degeneração retrógrada, devido à ausência do fluxo de substâncias tróficas produzidas no órgão inervado, o que resulta em cromatólise, tumefação celular e retração de muitos prolongamentos celulares (extirpação sináptica). Quando a lesão ocorre muito próxima ao corpo celular essa degradação se intensifica e a regeneração torna-se mais difícil (MULLER & STOLL, 1999). Nesse processo, no coto distal, as células de Schwann degradam a mielina e engolfam restos axonais. Posteriormente, macrófagos migram para a área de lesão e fagocitam resíduos de mielina e de axônios. Nos cotos proximais as células sofrem degeneração apenas até os segundos ou terceiros internodos distais, os quais são submetidos à regeneração (DIAO & VANNUYEN, 2000).

Quando a lesão for do tipo neurotmeze (transecção do nervo) com espaços entre cotos maiores que 5 cm, faz-se necessária a utilização de reparos cirúrgicos. O método clássico utilizado é a sutura, sendo a sutura epineural a mais tradicional. Outras técnicas como enxerto de nervo e enxerto de músculo também podem ser utilizadas para o reparo cirúrgico (DIAO & VANNUYEN, 2000). A lesão axonal não somente induz a fraqueza do músculo, a perda de sensação e dores neuropáticas, como também alterações no mapa cortical somatossensorial (MULLER & STOLL, 1999).

Outrossim, as lesões de tecido nervoso constituem um problema de saúde mundial. Os tratamentos são escassos e, a maioria, ainda em fase de testes. A prevalência mundial estimada de neuropatias periféricas na população em geral é de cerca de 2% e em adultos com mais de 55 anos pode atingir 8%, incluindo lesões por traumas e causas biológicas (KRAYCHETE & SAKATA, 2011). Uma série de experiências e estratégias foram testadas buscando a melhoria da recuperação funcional após lesão do nervo periférico, como genes (MADISON et al., 1985), terapias celulares (WAN et al., 2013), técnicas de microcirurgia e terapias físicas (exercício, laser e terapia elétrica) (YANG et al., 2011). No entanto, a eficácia dessas estratégias terapêuticas ainda é de pequeno impacto na busca pela reinervação adequada e recuperação funcional (KRAYCHETE & SAKATA, 2011). Portanto, há uma necessidade contínua de desenvolver estratégias que possam, isoladas ou combinadas, promover funcionalidades completas na recuperação.

Destarte, é evidente a complexidade dos processos de regeneração de nervos

periféricos e a importância das intervenções cirúrgicas para o reparo, principalmente em lesões do tipo neurotmese, em que ocorre a cisão completa no tronco nervoso (SIQUEIRA, 2006). Dessa forma, esse trabalho objetiva reunir os conhecimentos científicos produzidos nos últimos dez anos acerca das técnicas cirúrgicas no tratamento de lesões nervosas periféricas, a fim de oferecer subsídio para pesquisas e intervenções neste tema em análise.

## **METODOLOGIA**

Artigos publicados entre 2008 e 2018 e indexados no banco de dados da PUBMED foram selecionados para este trabalho de revisão. A estratégia de busca utilizada foi a partir das palavras-chave: “Techniques of therapeutic”, “Surgical”, “Regeneration”, “Peripheral nerve”, sendo incluídos, também, os seguintes limites: artigos em português, inglês e espanhol, disponíveis na íntegra. Foram excluídos artigos de revisão, relatos e séries de casos, bem como comentários de literatura, editoriais, revisões, comunicações e cartas ao editor. O período de busca dos artigos ocorreu entre 10 de janeiro de 2018 e 20 de fevereiro de 2018.

A seleção dos artigos foi realizada por dois revisores independentes e, no caso de discordâncias, um terceiro revisor foi convocado para o consenso final. Cada artigo foi lido na íntegra e suas informações foram dispostas em uma planilha, incluindo ano de publicação, autores, base de dados e periódico. Em seguida, os trabalhos foram submetidos a três testes de relevância compostos por perguntas objetivas que avaliavam e quantificavam as relações existentes entre os critérios de busca e os trabalhos encontrados, analisando a relação do artigo com os objetivos propostos pela pesquisa consoante o protocolo descrito por Muñoz et al. (2002).

No teste de relevância final, foram extraídas informações detalhadas de cada artigo selecionado, distribuindo-as em uma planilha para posterior análise. Logo, os artigos foram agrupados consoante seu tema principal, possibilitando uma síntese e discussão pelos seguintes temas: Transplante de nervo, Estimulação elétrica nervosa e Terapia com células-tronco. Os resultados da estratégia de busca foram apresentados, em Figura-1, pelo diagrama de pesquisa PRISMA em Moher et al. (2009).

## **RESULTADOS**

Dentre os 2.154 artigos identificados inicialmente na busca eletrônica, apenas 34 artigos foram incluídos na amostra final após os testes de relevância e análise criteriosa na íntegra (Figura 1). As referências obtidas descrevem métodos cirúrgicos de regeneração do nervo periférico, divergindo quanto às espécies utilizadas na amostra e o desenho metodológico empregado (Quadro 1).

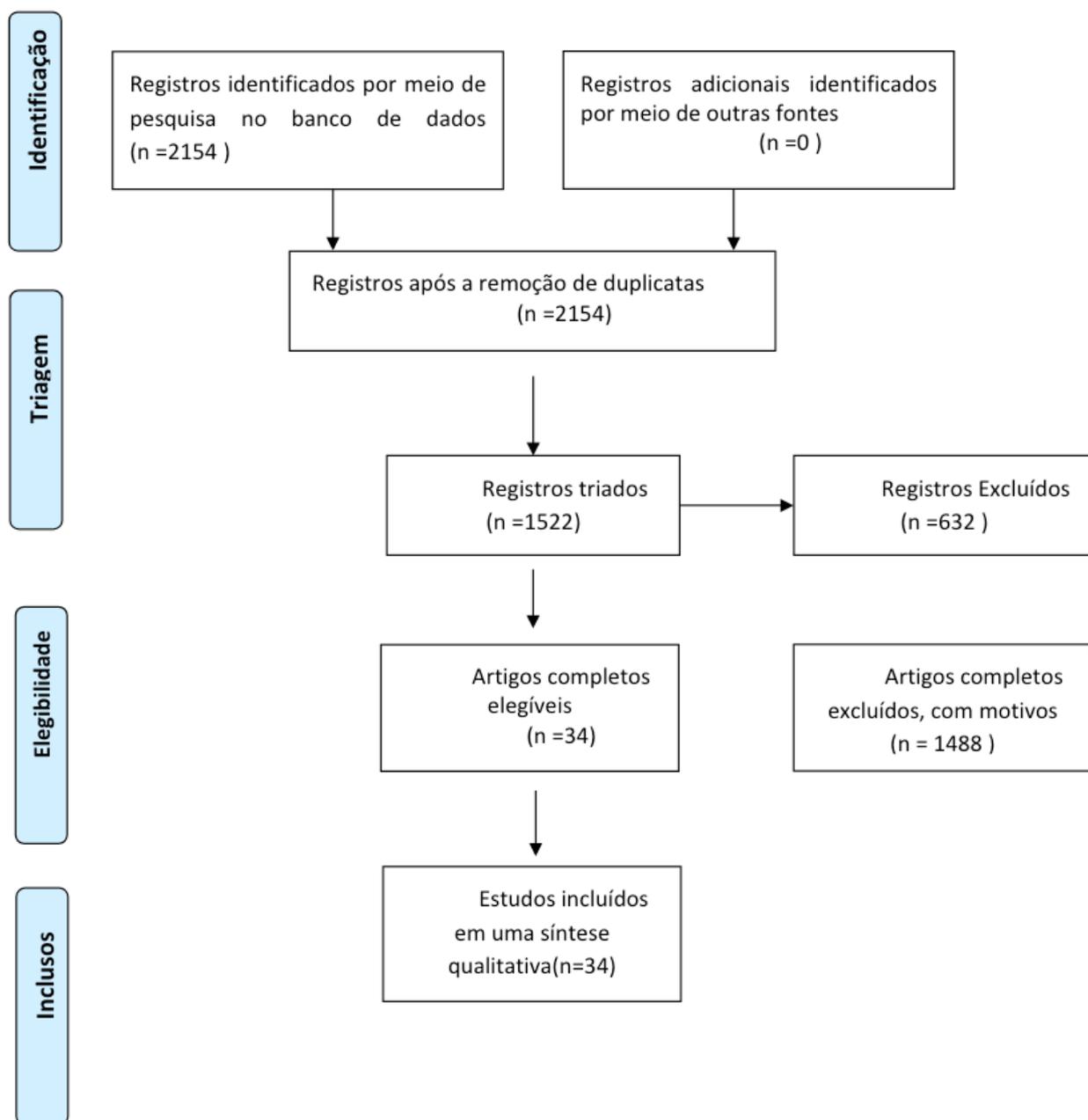


Figura 1. Diagrama PRISMA com dados de pesquisa

FONTE: Dados de pesquisa

AUTOR E ANO	NERVO	AMOSTRA	TÉCNICA CIRÚRGICA DE REGENERAÇÃO	TEMPO DE RENERAÇÃO
McLaughlin <i>et al.</i> , 2008	Nervo Óptico	44 ratos	Uso de aloenxerto da córnea ou um substituto feito de qualquer colágeno humano recombinante tipo I ou II.	12 meses
Whitlock <i>et al.</i> , 2010	Nervo Isquiático	123 camundongos	Sutura do nervo lesionado com aloenxerto de 5 mm, sem retirada de fragmentos do nervo receptor.	4 meses

<b>Schlenker et al., 2010</b>	Nervo Cavernoso	344 ratos	Reconstrução microcirúrgica bilateral imediata usando o nervo genitofemoral com tubos de silicone semeados com células de Schwann ou tubos de silicone semeados com células de Schwann transduzidas com Fator Neurotrófico derivado de Células- gliais (GDNF).	1 mês e 2 semanas
<b>Hsiang et al., 2011</b>	Nervo Isquiático	23 ratos	Reconstrução do nervo com conduto de genipina e caseína.	2 meses
<b>Wang et al., 2011</b>	Nervo Isquiático	48 ratos	Reconstrução do nervo com conduto nervoso de 1,2 cm semeado de células-tronco derivadas da crista neural com espaço de 1 cm entre os cotos.	1 mês
<b>Moges et al., 2011</b>	Nervo Mediano e Nervo Sural	36 ratos	Reparo do nervo mediano com autoenxerto do nervo sural com cola de fibrina e terapia com laser.	4 meses
<b>Kokai et al., 2011</b>	Nervo Isquiático	30 ratos	Separação dos fascículos e sutura com prolene 10-0 pelo epineuro em um conduto de 1,7 cm após retração dos cotos. Num grupo, o conduto foi semeado com microesferas de GDNF e, no outro, sem o fator de crescimento. No grupo controle, utilizou-se isoenxerto.	4 meses
<b>Ray et al., 2011</b>	Nervo Isquiático	114 camundongos	Fixado aloenxerto em posição invertida utilizando microssutura 11-0.	1 mês
<b>Yao et al., 2012</b>	Nervo Isquiático	18 ratos	Reparo utilizando condutos de silicone em um espaço de 10 mm, com estimulação elétrica induzida por estreptozocina.	1 mês
<b>Dornseifer et al., 2011</b>	Nervo Isquiático	24 ratos	Autoenxerto com conduto de colágeno tipo I bovino com tecido muscular autólogo desnaturado modificado.	2 meses
<b>Suslu et al., 2013</b>	Nervo Isquiático	36 camundongos	Reparo do nervo após esmagamento com dexametasona tópica ou sistêmica podendo estar associada ao gelfoam.	1 mês
<b>Squintani et al., 2013</b>	Plexo braquial	10 seres humanos com lesão do plexo braquial	Aloenxertos criopreservados foram utilizados para neurotizações musculares, para neurotizações nervosas e procedimentos de neurólise foram realizados.	24 meses
<b>Berrocal et al., 2013</b>	Nervo Isquiático	90 ratos	Transplante de células de Schwann em um tubo de colágeno.	4 meses

<b>Wan et al., 2013</b>	Nervo Hipoglosso	45 camundongos	A cirurgia consistiu na interposição de um enxerto de nervo pré-degenerado (PNG) e modificado geneticamente para Neurotrofina 3 (NT-3) com os nervos hipoglosso e facial em cada uma das extremidades.	4 meses
<b>Cunha et al., 2013</b>	Nervo Peroneal	26 camundongos	Enxerto de nervo autólogo oriundo do nervo isquiático de 5 mm.	1 mês e 2 semanas
<b>Dai et al., 2013</b>	Nervo Isquiático	70 camundongos	Corte do nervo isquiático e aplicação de um autoenxerto ou de um conduto feito com uma membrana derivada do látex natural.	2 meses
<b>Uranüs et al., 2012</b>	Nervo Isquiático	14 porcos	Reparo do nervo por coaptação ou com prótese sintética (gelatina, titânio).	9 meses
<b>Mohammadi et al., 2012</b>	Nervo Isquiático	54 ratos	Implante de tubo de silicone e administração oral de Hypericum 30c.	3 meses
<b>Kim et al., 2014</b>	Nervo Isquiático	42 ratos	Nanotubos e células-tronco derivadas de tecido adiposo humano.	1 mês e 2 semanas
<b>Riley et al., 2014</b>	Nervo Isquiático	36 ratos	Aloenxertos fundidos com polietilenoglicol (PEG).	1 mês e 2 semanas
<b>Goulart et al., 2014</b>	Nervo Isquiático	32 ratos	Sutura seguida de enxerto celular e acelular.	2 meses
<b>Marinescu et al., 2014</b>	Nervo Isquiático	48 ratos	Guia de nervo biodegradável composto por colágeno (COL) e álcool polivinílico.	3 meses
<b>Assis et al., 2014</b>	Nervo Isquiático	95 Camundongos	Esmagamento do nervo e Estimulação Nervosa Elétrica Transcutânea (TENS).	1 mês
<b>Hayashi et al., 2008</b>	Nervo Femoral	88 camundongos	A extremidade do nervo lesionado foi suturada à lateral de um nervo não lesionado.	5 meses
<b>Amr et al., 2014</b>	Nervo Espinal	14 seres humanos com total paraplegia	Enxerto com células-tronco oriundas de cultura.	24 meses
<b>Choi et al., 2014</b>	Nervo Laringeo	28 coelhos	Reconexão dos cotos com implante de tubo de silicone não poroso.	2 meses
<b>Carrier-Ruiz et al., 2015</b>	Nervo Isquiático	104 ratos	Reconexão dos cotos com tubo de polietileno com células-tronco.	3 meses
<b>Barber et al., 2015</b>	Nervo Acessório espinal	30 seres humanos	Estimulação breve local (BES).	1 mês e 2 semanas
<b>Chen et al., 2015</b>	Nervo Isquiático	72 ratos	Ressecção transversa do nervo, seguida de anastomose e injeção intramuscular de células-tronco derivadas do líquido amniótico humano.	2 meses

<b>Sadraie <i>et al.</i>, 2016</b>	Nervo Isquiático	50 ratos	Transecção do nervo e posterior recuperação com membrana amniótica acelular associada ou não à betametasona.	2 meses
<b>Wang <i>et al.</i>, 2017</b>	Nervo Isquiático	48 ratas	Transplante de enxerto de células de Schwann transfectadas com Fator 7 de Kruppel (KLF7).	1 mês
<b>Nakayama <i>et al.</i>, 2014</b>	Nervo Isquiático	11 cães	Aloenxertos de nervos tratados com polifenol.	2 meses
<b>Qiongjiao <i>et al.</i>, 2010</b>	Nervo Isquiático	32 ratos	Nervo cortado e tratado com tacrolimus (FK506) e com fator de crescimento neural (NGF).	3 meses
<b>Sowa <i>et al.</i>, 2016</b>	Nervo Isquiático	55 camundongos	Células-tronco derivadas de tecido adiposo e células de Schwann transplantadas com tubos de hidrogel.	1 mês

Quadro 1. Síntese dos artigos incluídos no estudo.

## DISCUSSÃO

### Regeneração por enxertos de nervo

Estudos de Riley *et al.*, (2014) utilizaram a técnica de fusão de aloenxertos de nervo isquiático com polietilenoglicol (PEG), sugerindo que esse procedimento recupera a função do nervo lesionado em poucas semanas e retarda a degeneração walleriana, além de reduzir a perda da função motora e a atrofia muscular típicas das lesões nervosas. Os dados provenientes desse estudo são consistentes com os dados publicados por Britt *et al.*, (2010), utilizando a técnica de fusão com PEG após lesão do nervo isquiático por esmagamento e transecção. Além disso, os dados de Riley *et al.*, (2014) corroboram com o estudo anterior de Sexton *et al.*, (2012) ao observar que o número total de axônios mielinizados viáveis é maior em um aloenxerto fundido com PEG.

As pesquisas de Sexton *et al.*, (2012) usaram um modelo de lesão do nervo isquiático em ratos com reparação por autoenxerto e tratamento com soluções contendo polietilenoglicol (PEG) e azul de metileno. Os grupos tratados com PEG demonstraram uma eficácia na condução de potencial elétrico, o qual foi restaurado precocemente em comparação aos não tratados. Ademais, os dados do estudo demonstraram que o uso do PEG atrasa a degeneração walleriana que ocorre após lesão nervosa aguda.

Os estudos de Marinescu *et al.*, (2014) utilizaram tubos de colágeno (COL) e álcool polivinílico (PVA) associado a células-tronco mesenquimais (CTM) como

substituintes de enxertos de nervos periféricos, avaliando o grau de regeneração de nervo isquiático de ratos. O uso das CTM demonstrou significativa melhora no crescimento axonal e na mielinização em comparação ao uso do tubo nervoso vazio. Além disso, os dados desse estudo demonstraram que as CTM liberam fatores de crescimento que estimulam a síntese de componentes da lâmina basal. A técnica utilizada por Marinescu *et al.*, (2014) difere da técnica de Riley *et al.*, (2014) sobretudo por este utilizar uma base biológica de nervo, enquanto o primeiro utilizou um tubo sintético preenchido por células mesenquimais.

Nesse viés, estudos de McLaughlin *et al.*, (2008) utilizaram enxertos suínos, bio sintéticos feitos com colágeno tipo I e outros produzidos com colágeno tipo III para avaliar o grau de regeneração nervosa. Os enxertos bio sintéticos, tanto os de colágeno tipo I quanto tipo III, possuem um ambiente favorável para a regeneração neuronal em comparação com o enxerto suíno, com a vantagem de não possuir componentes derivados de animais. Além disso, a inervação nos enxertos bio sintéticos segue naturalmente sem o intermédio de qualquer fator de crescimento.

Estudos de Zhu *et al.*, (2011) desenvolveram um canal nervoso nanofibroso de duas camadas como forma de substituir nervos lesionados. A técnica utilizada é inovadora em comparação com a dos estudos de Chew *et al.*, (2007) e Kim *et al.*, (2008), haja vista que estes utilizaram um tubo de silicone com lâminas alinhadas de nanofibras para simular a eletrofiação, enquanto a técnica utilizada por Zhu *et al.*, (2011) consiste em uma construção unificada com nanofibras dispostas longitudinalmente. Os dados demonstram que essa técnica fornecerá melhor integridade mecânica e durabilidade em comparação aos condutos compostos por nanofibras longitudinais. Ademais, foi demonstrado também que a utilização dessa técnica acelera o crescimento de axônios mielinizados.

Em Wang *et al.* (2017) utilizaram o transplante de enxerto de células de Schwann associado com o fator 7 de Krüppel (KLF7) para avaliar o grau de regeneração após lesão do nervo isquiático. Os dados demonstram que a utilização de KLF7 promoveu o aumento do crescimento axonal e da mielinização. Tais resultados corroboram com os estudos de Veldman *et al.*, (2007) que utilizou técnica semelhante. O KLF7 demonstrou o potencial de estimular genes associados à regeneração, promovendo a proliferação das células de Schwann e a recuperação funcional do nervo.

Para Nakayama *et al.*, (2014), os polifenóis são um importante grupo a ser estudado, uma vez que promovem ações tanto anti-isquêmicas, essenciais para a preservação do enxerto, quanto imunossupressoras, importantes para evitar a rejeição. No entanto, a despeito do eficiente mecanismo anti-isquêmico dos polifenóis, estes não suprimiram completamente os episódios de rejeição imune induzidos pelo alotransplante contra os enxertos em animais como o cachorro, que têm um sistema imunológico altamente desenvolvido. Dessa forma, uma alternativa viável seria a imersão de polifenóis em associação com uma dose terapêutica de

imunossupressor FK506 (Tacrolimus), que pode levar à regeneração nervosa bem-sucedida em animais maiores.

Todavia, enquanto o Tacrolimus é tido por Nakayama *et al.*, (2014) como imunossupressor recomendado para o aloenxerto de nervo periférico, Whitlock *et al.*, (2010) sugere a utilização da terapia experimental de bloqueio de coestimulação tripla como abordagem substituta. Isso porque, na imunossupressão contínua do Tacrolimus, após a rápida migração de células de Schwann observada no pós-operatório imediato, mas a substituição adicional das células de Schwann do doador pelas do hospedeiro ocorre lentamente, quando ocorre.

Em contraste com o Tacrolimus, o objetivo do bloqueio de coestimulação tripla é induzir tolerância a longo prazo ao tecido alogênico, inibindo a sensibilização das células T do hospedeiro aos aloantígenos doadores no pós-operatório imediato. Baseado nisso, formulou-se a hipótese de que a retirada gradual da imunossupressão, como ocorre na terapia experimental de bloqueio de coestimulação tripla, pode funcionar como um estímulo suave para a migração das células de Schwann hospedeiras para o enxerto, à medida que a população de células doadoras sofre rejeição lentamente, representando melhor prognóstico na terapêutica dos transplantes. Destarte, os ratos que receberam o bloqueio coestimulatório não experimentaram nenhuma das morbidades (incluindo úlceras de pele e ganho de peso relativamente baixo) e exibiram menor mortalidade que os ratos nos grupos tratados com Tacrolimus.

Segundo Ray *et al.*, (2011), a preservação a frio é uma promissora técnica, uma vez que, após apenas 2 semanas de criopreservação, as células de Schwann diminuem sua expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) Classe II e tem sido demonstrado que as mesmas se comportam como células apresentadoras de antígeno (APCs) facultativas, representando o alvo primário de rejeição de aloenxerto do hospedeiro. Nesse aspecto, a via indireta pode ser a via predominante da apresentação do antígeno na resposta do hospedeiro ao aloenxerto do nervo. A duração prolongada da preservação do aloenxerto do nervo a frio é necessária para atenuar significativamente a resposta de rejeição.

A preservação a frio por 4 semanas melhora a regeneração nervosa com efeito significativo pela via indireta. Para Squintani *et al.*, (2013), a criopreservação e o congelamento controlado diminuem a resposta imune e o risco de rejeição do enxerto em receptores, preservam a viabilidade das células de Schwann e mantêm a lâmina basal nervosa. Também foi demonstrado que essas técnicas diminuem a expressão de moléculas de adesão intercelular, essenciais para o reconhecimento imunológico de tecidos estranhos, auxiliando a regeneração axonal através de lacunas estreitas de nervos periféricos.

O autoenxerto é um procedimento comumente utilizado em casos de lesão do nervo periférico com perda de massa. Estudos clínicos mostraram que os enxertos venosos são eficientes na reconstrução de nervos sensitivos com defeitos menores que 3 cm. Cunha *et al.*, (2013) demonstraram que o fator de crescimento de células

endoteliais (ou fator angiogênico) é semelhante ao que se encontra nas células de Schwann, podendo favorecer a proliferação celular.

Cunha *et al.*, (2013) compararam o grau de regeneração neural em ratos por interposição de enxerto de nervo autólogo, veia autógena, veia autógena conservada em glicerol e veia alogênica conservada em glicerol, utilizando análises histológicas qualitativas e bem como avaliações funcionais. Os nervos peroneais foram reconstruídos diferentemente nos quatro grupos de animais. As avaliações funcionais foram realizadas pré e pós-operatório por um período de seis semanas. Após seis semanas, os animais foram sacrificados e as avaliações histológicas foram realizadas. As veias autógenas ou alogênicas preservadas com glicerol mostraram resultados semelhantes aos resultados do autoenxerto. Veia autógena (sem preservação em glicerol) apresentou resultados histológicos e funcionais estatisticamente inferiores aos demais grupos.

### **Regeneração por estimulação elétrica nervosa**

O uso de eletrodos para estimulação dos nervos pode ser uma das metodologias empregadas na regeneração nervosa. Segundo estudos retrospectivos, o procedimento possui menor risco que os demais, podendo ser utilizado por longos períodos. Além disso, a técnica possui fácil execução e aplicação. Todavia, alguns autores afirmam que a estimulação elétrica nervosa prolongada pode inibir o processo regenerativo, contradizendo assim os estudos existentes que reiteram sua eficácia independentemente do período de aplicação (ASSIS *et al.*, 2014; BARBER *et al.*, 2015).

Assis *et al.*, (2014) estudaram o efeito da estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) de baixa frequência e TENS de alta frequência em camundongos Swiss, após lesão por esmagamento do nervo isquiático direito. Após cinco semanas, os nervos foram dissecados bilateralmente para análise histológica e histomorfométrica.

A avaliação histológica por microscopia de luz e eletrônica evidenciou, em Assis *et al.*, (2014), que os nervos isquiáticos dos animais presentes nos grupos TENS de alta frequência e lesionados não tratados tinham perfil similar, apresentando sinais extensivos de degeneração (diminuição da densidade de fibras na faixa de 6-12  $\mu\text{m}$  de diâmetro e diminuição do diâmetro da fibra e área de mielina na faixa de 0-2  $\mu\text{m}$  de diâmetro). Contudo, os animais do grupo TENS de baixa frequência apresentaram nervos com regeneração aumentada, exibindo aspectos histológicos semelhantes aos nervos do grupo controle (não lesionados). Sugerindo assim que as altas cargas elétricas aplicadas após um esmagamento nervoso periférico podem ser prejudiciais para a regeneração, enquanto as baixas cargas elétricas podem aumentar a capacidade de regeneração nervosa.

Teodori *et al.*, (2011) investigaram a influência da estimulação elétrica de alta voltagem (EEAV) sobre a morfologia e a função do nervo isquiático após esmagamento

em ratos. Ao contrário de Assis *et al.*, (2014), concluíram que a EEAV acelerou a recuperação funcional, potencializou a maturação das fibras nervosas regeneradas e promoveu diminuição da densidade de área de macrófagos e tecido conjuntivo no nervo, sugerindo aceleração do reparo neural.

Gordon *et al.*, (2010) avaliaram o efeito da Estimulação elétrica (ES) na regeneração axonal após a cirurgia em pacientes com compressão do nervo mediano no túnel do carpo, causando acentuada perda axonal motora. Foi realizada a cirurgia de liberação do túnel do carpo (CTRS) e estimulação elétrica dos pacientes através de eletrodos de aço inoxidável colocados ao lado do nervo mediano proximal ao local de descompressão cirúrgica para ES bipolar imediato de 1 h em 20 Hz. Os sujeitos foram acompanhados por um ano com intervalos regulares.

A regeneração axonal foi quantificada por meio da estimação do número de unidades motoras (MUNE) e estudos de condução nervosa sensorial e motora. Teste de Pegboard Purdue, Monofilamentos de Semmes Weinstein, e o Questionário de Autoavaliação de Levine foram usados para avaliar a recuperação funcional. O grupo de estimulação teve regeneração axonal significativa em 6-8 meses após o CTRS. Os desfechos mostraram melhora significativa nos pacientes. Refere-se, portanto, que ES breve de baixa frequência acelera a regeneração axonal e reinervação alvo em humanos (GORDON *et al.*, 2010).

Em Barber *et al.*, (2015) refere-se a lesão do nervo acessório espinal (SAN) por dissecação tecidual em pessoas acometidas por câncer de cabeça e pescoço (CCP). Os autores destacam que a desvascularização e a retração do SAN resultam em lesão axonal, que pode ocasionar dor no ombro e disfunção no pós-operatório, mesmo em procedimentos menos invasivos. Nas duas últimas décadas, nesse viés, foi demonstrado, tanto em humanos como em modelos animais, que a aplicação de estimulação elétrica breve intraoperatória (BES) em transecção de nervos motores e sensoriais promovem crescimento axonal e, assim, aumenta a regeneração nervosa. Diante do exposto, os autores avaliaram a eficácia da estimulação elétrica breve intraoperatória (BES) em adultos com um novo diagnóstico de CCP, submetidos à cirurgia de dissecação tecidual na região do pescoço.

Os participantes foram submetidos a BES após o término do esvaziamento cervical por 60 min continuamente a 20 Hz, 3 a 5 V, em pulsos de 100 msec. No pós-operatório, os mesmos foram avaliados usando o Constant-Murley Shoulder Score, uma escala que avalia a dor no ombro, força e amplitude de movimento. Os desfechos secundários medidos incluíram estudos de condução nervosa (NCS) e eletromiográficos (EMG), assim como pontuações no Oxford Shoulder Score (OSS), o Neck Dissection Índice de Incapacidade (NDII), e o índice de Qualidade de Vida (UW-QOL) da Universidade de Washington. Os resultados primários e secundários foram avaliados em 6 semanas, 3 meses, 6 meses e 12 meses (BARBER *et al.*, 2015).

Neste estudo, 60 min de BES em 20 Hz mostrou ser tão eficaz quanto a

estimulação contínua durante 2 semanas, sugerindo que o BES é uma técnica clinicamente viável. O BES demonstrou ter sucesso, acelerando a regeneração nervosa periférica em humanos. Logo, esta técnica pode fornecer uma opção de prevenção adjunta para dor e disfunção do ombro em pacientes com CCP (BARBER *et al.*, 2015).

## Regeneração por células-tronco

Os nervos periféricos podem apresentar retardo de regeneração em decorrência do comprometimento de uma microarquitetura adequada para o crescimento tecidual, bem como pelo acometimento patológico prolongado do tecido. Nesse interim, células-tronco mesenquimais da medula óssea (MSC) apresentam-se por secretarem fatores solúveis que podem melhorar a regeneração dos nervos periféricos. Além disso, no âmbito da engenharia de biomateriais, estruturas destacam-se por sozinhas ou aliadas às células-tronco, ocasionarem uma positiva reconstrução tecidual.

Filamentos microestruturados de poli-caprolactona (PCL) são capazes de induzir bandas de Büngner (estruturas especializadas formadas por células de Schwann diferenciadas, alinhadas e proliferativas que constituem um guia permissivo para os axônios regenerativos) e promover a regeneração no sistema nervoso periférico (SNP). Isto levou ao desenvolvimento de muitos biomateriais sintéticos, como silicone, poli-tetrafluoroetileno (PTFE), ácido poli-L-glicólico (PLGA), poli-caprolactona (PCL) e ácido poli-L-láctico (PLLA) envolvidos na regeneração do nervo periférico (KIM *et al.*, 2014).

Em Kim *et al.*, (2014), examinaram os efeitos *in vivo* de células-tronco derivadas de tecido adiposo (ADSC) em nanotubos de carbono polimerizados na indução da regeneração neuronal em ratos. Os animais foram divididos em três grupos: 1) Grupo controle (14 nervos isquiáticos): os ratos foram transplantados com o arcabouço de nanotubos; 2) O grupo experimental I (14 nervos isquiáticos): os ratos foram transplantados com o andaime de nanotubos com o ADSCs não diferenciadas a uma densidade de  $7 \times 10^5$  células / 0,1 mL; 3) O grupo experimental II (14 nervos isquiáticos): os ratos foram transplantados com o andaime de nanotubos PCL com o ADSCs diferenciadas neuronais em uma densidade de  $7 \times 10^5$  células / 0,1 mL.

Os resultados de Kim *et al.*, (2014) indicaram que as ADSCs têm efeitos na indução da diferenciação de células enxertadas em células de Schwann de suporte, promovendo assim a regeneração nervosa periférica. Ainda, entretanto, pouco se sabe sobre os mecanismos subjacentes, quais fatores tróficos e citocinas podem ter um impacto sobre a sobrevivência das células hospedeiras *in vivo*. Além disso, as ADSCs diferenciadas mostram um grau mais alto de recuperação.

Ainda sobre a relevância das células de Schwann que podem secretar fatores neurotróficos no processo de regeneração, Dai *et al.*, (2013) afirmaram que esta e outros tipos de células alogênicas (células-tronco adultas derivadas de tecido adiposo

(ASCs), células-tronco da polpa dental (DPSCs) e a combinação de células de Schwann com ASCs ou DPSCs) quando semeados em condutos nervosos, têm sua eficácia comprovada na reparação em um defeito crítico de 15 mm de comprimento do nervo isquiático de rato. Vale salientar que células de Schwann, no entanto, não são fáceis de se obter em quantidade adequada, e sua atividade em um intervalo maior pode não ser tão satisfatória.

Portanto, as terapias baseadas em células-tronco são consideradas uma alternativa para o reparo do defeito do nervo longo. Estudos prévios mostraram que ASCs poderiam se diferenciar em células semelhantes a neurônios e células semelhantes às células de Schwann *in vitro*, secretar alguns fatores de crescimento nervoso, como Fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) e Fator de crescimento de fibroblasto (FGF), e se diferenciarem em células com um fenótipo semelhante a Schwann que beneficiam a extensão do reparo. Assim, nos estudos de Dai *et al.*, (2013) condutos semeados com células foram sempre superiores aos condutos sem células. Em relação à velocidade de condução nervosa e ao número de vasos sanguíneos, os condutos semeados com células de Schwann e DPSCs apresentaram melhores valores do que aqueles semeados apenas com DPSCs. Os resultados do estudo *in vitro* confirmaram a produção sinérgica de citocinas de Fator de crescimento neural (NGF) da cocultura de células de Schwann e ASCs (DAI *et al.*, 2013).

Sowa *et al.*, (2016) utilizaram transplantes de células de Schwann e células-tronco derivadas de tecido adiposo para restaurar lesão por transecção de nervo isquiático em ratos adultos. As células-tronco derivadas de tecido adiposo promoveram a regeneração axonal, mas não se diferenciaram em células de Schwann e sobreviveram por quatro semanas. É importante destacar que as células-tronco derivadas de tecido adiposo em seu estágio indiferenciado desempenharam papel semelhante às células de Schwann, podendo ser usadas como fonte alternativa para terapia de células autólogas para pacientes com lesão de nervo periférico.

## CONCLUSÕES

Comparou-se as estratégias cirúrgicas de regeneração de tecido nervoso periférico utilizadas por cada artigo, constatando-se que as técnicas de regeneração por autoenxertos, aproximação de cotos com próteses sintéticas, estimulação elétrica e construção tecidual por células-tronco apresentam resultados satisfatórios na regeneração nervosa em curtos períodos de recuperação, divergindo quanto às amostras estudadas e tempo em meses de análise tecidual.

Torna-se evidente a importância do conhecimento e estudo sobre a regeneração dos nervos periféricos, haja vista sua contribuição na descoberta de novos tratamentos que visam recuperar a funcionalidade de nervos lesionados por

esmagamento ou transecção. No entanto, nota-se que os estudos nessa área ainda são muito limitados, não conseguindo explicar ainda grande parte dos processos de regeneração nervosa. Dessa forma, fazem-se necessárias mais pesquisas para o desenvolvimento de novos modelos de regeneração do nervo periférico.

## REFERÊNCIAS

AMR, Sherif. *et al.* Bridging defects in chronic spinal cord injury using peripheral nerve grafts combined with a chitosan-laminin scaffold and enhancing regeneration through them by co-transplantation with bone-marrow-derived mesenchymal stem cells: Case series of 14 patients. **The Journal Of Spinal Cord Medicine**, [s.l.], v. 37, Nervo 1, p.54-71, 26 nov. 2013. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1179/2045772312y.0000000069>.

ASSIS, Diana Cavalcante Miranda de *et al.* The Parameters of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Are Critical to Its Regenerative Effects When Applied Just after a Sciatic Crush Lesion in Mice. **Biomed Research International**, [s.l.], v. 2014, p.1-8, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/572949>.

BARBER, Brittany *et al.* Intraoperative brief electrical stimulation (BES) for prevention of shoulder dysfunction after oncologic neck dissection: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, [s.l.], v. 16, Nervo 1, p.1-6, 30 maio 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s13063-015-0745-7>.

BERROCAL, Yerko A. *et al.* Transplantation of Schwann cells in a collagen tube for the repair of large, segmental peripheral nerve defects in rats. **Journal Of Neurosurgery**, [s.l.], v. 119, Nervo 3, p.720-732, set. 2013. Journal of Neurosurgery Publishing Group (JNSPG). <http://dx.doi.org/10.3171/2013.4.jns121189>.

BRITT, Joshua M. *et al.* Polyethylene Glycol Rapidly Restores Axonal Integrity and Improves the Rate of Motor Behavior Recovery After Sciatic Nerve Crush Injury. **Journal Of Neurophysiology**, [s.l.], v. 104, Nervo 2, p.695-703, ago. 2010. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/jNervo01051.2009>.

CARRIER-RUIZ, A. *et al.* Biological behavior of mesenchymal stem cells on poly-ε-caprolactone filaments and a strategy for tissue engineering of segments of the peripheral nerves. **Stem Cell Research & Therapy**, [s.l.], v. 6, Nervo 1, p.1-15, 7 jul. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s13287-015-0121-2>.

CHEN, Chun-jung *et al.* Improved Neurological Outcome by Intramuscular Injection of Human Amniotic: Fluid Derived Stem Cells in a Muscle Denervation Model. **Plos One**, Estados Unidos, v. 15, Nervo 1, p.1-20, 06 maio 2015.

CHEW, S.y. *et al.* Aligned Protein–Polymer Composite Fibers Enhance Nerve Regeneration: A Potential Tissue-Engineering Platform. **Advanced Functional Materials**, [s.l.], v. 17, Nervo 8, p.1288-1296, 21 maio 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/adfm.200600441>.

CHOI, Jeong-seok *et al.* Functional Regeneration of Recurrent Laryngeal Nerve Injury During Thyroid Surgery Using an Asymmetrically Porous Nerve Guide Conduit in an Animal Model. **Thyroid**, [s.l.], v. 24, Nervo 1, p.52-59, jaNervo 2014. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/thy.2013.0338>.

CUNHA, Armando dos Santos; COSTA, Marcio Paulino; SILVA, Ciro Ferreira da. Peroneal nerve reconstruction by using glycerol-preserved veins. Histological and functional assessment in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 28, Nervo 2, p.94-101, fev. 2013.

DAI, Lien-guo; HUANG, Guo-shiang; HSU, Shan-hui. Sciatic Nerve Regeneration by Cocultured

Schwann Cells and Stem Cells on Microporous Nerve Conduits. **Cell Transplantation**, [s.l.], v. 22, Nervo 11, p.2029-2039, nov. 2013. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.3727/096368912x658953>.

DORNSEIFER, Ulf *et al.* Peripheral nerve reconstruction with collagen tubes filled with denatured autologous muscle tissue in the rat model. **Microsurgery**, [s.l.], v. 31, Nervo 8, p.632-641, 24 ago. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/micr.20926>.

GORDON, Tessa *et al.* Brief post-surgical electrical stimulation accelerates axon regeneration and muscle reinnervation without affecting the functional measures in carpal tunnel syndrome patients. **Experimental Neurology**, [s.l.], v. 223, Nervo 1, p.192-202, maio 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.09.020>.

GOULART, Camila Oliveira; SOUTO, Allana. A Combination of Schwann-Cell Grafts and Aerobic: Exercise Enhances Sciatic Nerve Regeneration. **Plos One**, Rio de Janeiro, v. 9, Nervo 10, p.1-13, out. 2014.

HAYASHI, Ayato *et al.* Axotomy or compression is required for axonal sprouting following end-to-side neurorrhaphy. **Experimental Neurology**, Estados Unidos, v. 211, Nervo 10, p.539-550, fev. 2008.

HSIANG, Chen Shih-wei *et al.* Novel use of biodegradable casein conduits for guided peripheral nerve regeneration. **J. R. Soc. Interface**. China, p. 1-14. 27 abr. 2011.

KIM, Dong-yeon *et al.* In Vivo Effects of Adipose-Derived Stem Cells in Inducing Neuronal Regeneration in Sprague-Dawley Rats Undergoing Nerve Defect Bridged with Polycaprolactone Nanotubes. **Journal Of Korean Medical Science**, [s.l.], v. 29, Nervo 3, p.183-192, 21 out. 2014. Korean Academy of Medical Sciences (KAMJE). <http://dx.doi.org/10.3346/jkms.2014.29.s3.s183>.

KIM, Young-tae *et al.* The role of aligned polymer fiber-based constructs in the bridging of long peripheral nerve gaps. **Biomaterials**, [s.l.], v. 29, Nervo 21, p.3117-3127, jul. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.03.042>.

KRAYCHETE, Durval Campos; SAKATA, Rioko Kimiko. Neuropatias periféricas dolorosas. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, [s.l.], v. 61, Nervo 5, p.649-658, out. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-70942011000500014>.

KOKAI, Lauren E. *et al.* Sustained Growth Factor Delivery Promotes Axonal Regeneration in Long Gap Peripheral Nerve Repair. **Tissue Engineering Part A**, [s.l.], v. 17, Nervo 9-10, p.1263-1275, maio 2011. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/tenervotea.2010.0507>.

LE BEAU, J.M.; ELLISMAN, M.H.; POWELL, H.C. Ultrastructural and morphometric analysis of long-term peripheral nerve regeneration through silicone tubes. **J. Neurocytol.**, v.17, Nervo2, p.161-172, 1988.

MADISON, R.; SILVA, C.F. da; DIKKES, P.; CHIU, T.H.; SIDMAN, R.L. Increased rate of peripheral nerve regeneration using bioabsorbable nerve guides and laminin containing gel. **Exp. Neurol.**, v.88, Nervo3, p.767-772, 1985.

MARINESCU, Silviu-adrian *et al.* An animal model of peripheral nerve regeneration after the application of a collagen-polyvinyl alcohol scaffold and mesenchymal stem cells. **Romanian Journal Of Morphology & Embryology**, Romanian, v. 3, Nervo 55, p.891-903, 10 out. 2014.

MCLAUGHLIN, Christopher R *et al.* Regeneration of Corneal Cells and Nerves in an Implanted Collagen Corneal Substitute. **Cornea**, [s.l.], v. 27, Nervo 5, p.580-589, juNervo 2008. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/ico.0b013e3181658408>.

MOGES, Helina *et al.* Effect of 810nm light on nerve regeneration after autograft repair of severely injured rat median nerve. **Lasers In Surgery And Medicine**, [s.l.], v. 43, Nervo 9, p.901-906, 17 out.

2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.21117>.

MOHAMMADI, Rahim; AMINI, Keyvan; CHAREHSAZ, Sahar. Homeopathic treatment for peripheral nerve regeneration: an experimental study in a rat sciatic nerve transection model. *Homeopathy*, [s.l.], v. 101, Nervo 3, p.141-146, jul. 2012. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1016/j.homp.2012.05.002>.

MULLER & STOLL. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathol* 1999;9:313-25.

MUÑOZ S. I. S. *et al.* Revisão sistemática de literatura e metanálise: noções básicas sobre seu desenho, interpretação e aplicação na área da saúde. In: Anais do 8º Simpósio Brasileiro de Comunicação em Enfermagem; 2002, nov 6-11; São Paulo, Brasil [CD- ROM]. São Paulo:Universidade de São Paulo; 2002.

NAKAYAMA, Ken *et al.* Storage and allogeneic transplantation of peripheral nerve using a green tea polyphenol solution in a canine model. **Journal Of Brachial Plexus And Peripheral Nerve Injury**, [s.l.], v. 05, Nervo 01, p.97-104, 19 set. 2014. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1186/1749-7221-5-17>

QIONGJIAO, Yan *et al.* Evaluation of PRGD/FK506/NGF conduits for peripheral nerve regeneration in rats. **Neurology India**, [s.l.], v. 58, Nervo 3, p.384-392, maio 2010. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0028-3886.65810>

RAY, Wilson Z. *et al.* Effect of cold nerve allograft preservation on antigen presentation and rejection. **Journal Of Neurosurgery**, [s.l.], v. 114, Nervo 1, p.256-262, jan. 2011. Journal of Neurosurgery Publishing Group (JNSPG). <http://dx.doi.org/10.3171/2010.5.jns10111>.

RILEY, D.c. *et al.* Polyethylene glycol-fused allografts produce rapid behavioral recovery after ablation of sciatic nerve segments. **Journal Of Neuroscience Research**, [s.l.], v. 93, Nervo 4, p.572-583, 25 nov. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.23514>.

SADRAIE, Seyed Homayoon *et al.* Study of Transected Sciatic Nerve Repair by Amniotic Membrane with Betamethasone in Adult Albino Wistar Rats. **Archives Of Iranian Medicine**, Tehran, v. 19, Nervo 9, p.612-617, 15 juNervo 2016. <http://dx.doi.org/0161909/AIM.003>.

SCHLENKER, Boris *et al.* Effects of cavernous nerve reconstruction on expression of nitric oxide synthase isoforms in rats. *Bju International*, [s.l.], v. 106, Nervo 11, p.1726-1731, 15 nov. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-410x.2010.09364.x>.

SEXTON, Kevin W. *et al.* Hydrophilic polymers enhance early functional outcomes after nerve autografting. **Journal Of Surgical Research**, [s.l.], v. 177, Nervo 2, p.392-400, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2012.03.049>.

SIQUEIRA, Rinaldo. Peripheral Nerve Injury: A Review. **Revista de Neurociências**, São Paulo, v. 3, Nervo 15, p.226-233, 11 maio 2006.

SNELL, Richard S.. **Neuroanatomia Clínica**. 7. ed. São Paulo: Nova Guanabara, 2011.

SOWA, Yoshihiro *et al.* Adipose-Derived Stem Cells Promote Peripheral Nerve Regeneration In Vivo without Differentiation into Schwann-Like Lineage: Adipose-Derived Stem Cells Promote Peripheral Nerve Regeneration In Vivo without Differentiation into Schwann-Like Lineage. **Plastic And Reconstructive Surgery**, [s.l.], v. 137, Nervo 2, p.318-330, fev. 2016. Semanal. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/01.prs.0000475762.8658036>.

SQUINTANI, Giovanna *et al.* Nerve regeneration across cryopreserved allografts from cadaveric donors: a novel approach for peripheral nerve reconstruction. **Journal Of Neurosurgery**, [s.l.], v.

119, *Nervo* 4, p.907-913, out. 2013. *Journal of Neurosurgery Publishing Group (JNSPG)*. <http://dx.doi.org/10.3171/2013.6.jns121801>.

SUSLU, Husnu *et al.* Comparison of the Effects of Local and Systemic Dexamethasone on the Rat Traumatic Sciatic Nerve Model. **Turkish Neurosurgery**, Turquia, v. 23, *Nervo* 5, p.623-629, dez. 2013.

TEODORI, Rosana Macher *et al.* High-voltage electrical stimulation improves nerve regeneration after sciatic crush injury. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 15, *Nervo* 4, p.325-331, jul. 2011.

URANÜS, Selman *et al.* New Synthetic Prosthesis for Peripheral Nerve Injuries. *Surgical Innovation*, [s.l.], v. 20, *Nervo* 2, p.171-175, 20 set. 2012. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1553350612458546>.

VELDMAN, Matthew B. *et al.* Gene expression analysis of zebrafish retinal ganglion cells during optic nerve regeneration identifies KLF6a and KLF7a as important regulators of axon regeneration. **Developmental Biology**, [s.l.], v. 312, *Nervo* 2, p.596-612, dez. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.09.019>.

WALLER, A. Experiments on the Section of the Hypoglossal Nerves of the Frog, and Observations of the Alterations Produced Thereby in the Structure of Their Primitive Fibres. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, v. 140, p. 423-429, 1850.

WAN, Hong *et al.* Combination of hypoglossal-facial nerve surgical reconstruction and neurotrophin-3 gene therapy for facial palsy. **Journal Of Neurosurgery**, [s.l.], v. 119, *Nervo* 3, p.739-750, set. 2013. *Journal of Neurosurgery Publishing Group (JNSPG)*. <http://dx.doi.org/10.3171/2013.1.jns121176>.

WANG, Aijun *et al.* Induced pluripotent stem cells for neural tissue engineering. **Biomaterials**, California, v. 32, *Nervo* 32, p.5023-5032, abr. 2011.

WANG, Ying *et al.* KLF7-transfected Schwann cell graft transplantation promotes sciatic nerve regeneration. *Neuroscience*, [s.l.], v. 340, p.319-332, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.10.069>.

WHITLOCK, Elizabeth L. *et al.* Dynamic quantification of host Schwann cell migration into peripheral nerve allografts. **Experimental Neurology**, [s.l.], v. 225, *Nervo* 2, p.310-319, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2010.07.001>.

YANG, M.; RAWSON, J. L.; ZHANG, E. W.; ARNOLD, P. B.; LINEAWEAVER, W.; ZHANG, F. Comparisons of outcomes from repair of median nerve and ulnar nerve defect with nerve graft and tubulization: a meta-analysis. **J. Reconstr. Microsurg.**, Mississippi, v. 27, *Nervo* 8, p. 451-460, 2011.

YAO, Chun-hsu *et al.* Electrical stimulation improves peripheral nerve regeneration in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal Of Trauma And Acute Care Surgery*, [s.l.], v. 72, *Nervo* 1, p.199-205, jan. 2012. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/ta.0b013e31822d233c>.

ZHU, Yiqian *et al.* Engineering Bi-Layer Nanofibrous Conduits for Peripheral Nerve Regeneration. **Tissue Engineering Part C: Methods**, [s.l.], v. 17, *Nervo* 7, p.705-715, jul. 2011. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/teNervotec.2010.0565>.

## MATURAÇÃO DE BIOFILME, DISPERSÃO CELULAR E RESISTÊNCIA À ANFOTERICINA B DE UMA CEPA DO COMPLEXO *Fusarium solani* SOBRE CATETER VENOSO

### **Alana Fernanda Luzia Salvador**

Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina,  
Universidade Estadual de Maringá  
Maringá - Paraná

### **Flavia Franco Veiga**

Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
Saúde, Universidade Estadual de Maringá  
Maringá - Paraná

### **Terezinha Inez Estivalet Svidzinski**

Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
Saúde, Universidade Estadual de Maringá  
Maringá - Paraná

### **Melyssa Fernanda Norman Negri Grassi**

Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
Saúde, Universidade Estadual de Maringá  
Maringá - Paraná

**RESUMO:** As espécies pertencentes ao complexo *Fusarium solani* possuem alta capacidade de colonizar e formar biofilme sobre diferentes superfícies, além de causar patogenicidade agindo de forma oportunista. Este trabalho objetivou avaliar a cinética da formação de biofilmes em cateter venoso, focando em maturação e dispersão ao longo do tempo (24, 48, 72 e 96 horas) e avaliar a ação antibiofilme de anfotericina B, em biofilme pré-formado. Para avaliar a cinética e dispersão utilizou-se os métodos de enumeração do número de fungos cultiváveis em unidades

formadoras de colônia (UFC), biomassa do biofilme total e atividade metabólica mitocondrial (ensaio de redução). A atividade antibiofilme foi avaliada após 96 horas de biofilme, com a adição da droga (de 0,03 a 16 µg/mL) e incubado por mais 48 horas e determinada a concentração mínima capaz de erradicar o biofilme. Os biofilmes de 24 horas a 48 horas demonstraram ser em período de crescimento com aumento dos parâmetros avaliados. A maturação passou a ser considerada entre 48 horas e 72 horas, onde o crescimento se manteve estável para UFC e biomassa total. Já a dispersão ocorreu a partir de 72 horas a 96 horas, quando houve diminuição dos parâmetros avaliados UFC, biomassa total e atividade metabólica mitocondrial. Foi possível observar que não ocorreu a inibição do biofilme da cepa do complexo *F. solani* em nenhuma das concentrações estudadas, havendo crescimento do fungo recuperado após 48 horas em contato anfotericina B. Assim, conclui-se que o biofilme formado de *F. solani* se matura em 48h e a partir de 72h começa a dispersar-se, podendo organizar-se e formar um novo biofilme, além de mostrar-se resistente à anfotericina B.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Fusarium solani*, biofilme, dispositivo médico, resistência a poliênico.

## STRAIN OF *Fusarium solani* COMPLEX BIOFILM MATURATION, DISPERSION ON VENOUS CATHETER AND AMPHOTERICIN B RESISTANCE

**ABSTRACT:** The species belonging to the *Fusarium solani* complex have a high capacity to colonize and form biofilm on different surfaces, besides causing opportunistic pathogenicity. This study aimed to evaluate the kinetics of biofilm formation in venous catheters, focusing on maturation and dispersion over time (24, 48, 72 and 96 hours) and to evaluate the amphotericin B antibiofilm action in preformed biofilm. To evaluate the kinetics and dispersion we used the methods of enumerating the number of cultivable fungi in colony forming units (CFU), total biofilm biomass and mitochondrial metabolic activity (reduction assay). Antibiofilm activity was evaluated after 96 h of biofilm, with the addition of the drug (from 0.03 to 16 µg / mL) and incubated for a further 48 h and the minimum concentration capable of eradicating the biofilm was determined. The 24 to 48 h biofilms were shown to be growing with increasing the evaluated parameters. Maturation was considered between 48 and 72 h, where growth remained stable for CFU and total biomass. Already the dispersion occurred from 72 to 96 h, when there was a decrease in the parameters evaluated CFU, total biomass and mitochondrial metabolic activity. It was observed that there was no inhibition of the *F. solani* complex strain biofilm in any of the studied concentrations, with growth of the fungus recovered after 48 h in contact with amphotericin B. Thus, it is concluded that the *F. solani* biofilm formed maturity within 48h and from 72h onwards it begins to disperse and can organize and form a new biofilm, and is resistant to amphotericin B.

**KEYWORDS:** *Fusarium solani*, biofilm, medical device, polyene resistance.

### 1 | INTRODUÇÃO

*Fusarium* spp. são um fungo filamentosos anemófilo, amplamente encontrado no solo, água e ar, que apresenta em sua micromorfologia hifas septadas hialinas. Em humanos, *Fusarium* spp. é responsável por diversas doenças, desde micoses cutâneas até infecções sistêmicas. Essas infecções disseminadas causadas por esse fungo apresentam altas taxas de mortalidade, em pacientes imunocomprometidos variando entre 50% a 70% (NUCCI; ANAISSIE, 2007).

Variados fatores de virulência são utilizados por microrganismos como estratégias para resistir ao sistema imunológico do hospedeiro e causar infecção. Dentre os fatores de virulência dos fungos, a formação de biofilme tem grande importância na patogênese das infecções fúngicas. O biofilme se inicia com a adesão do fungo a um substrato, então as células proliferam e subsequente a formação de hifas. Com o biofilme em desenvolvimento aumentando a biomassa forma-se a matriz extracelular que o envolve e com isso o biofilme está maturado. Após, ocorre a dispersão, onde as células filhas se desprendem do biofilme com uma tendência de maior virulência (BLANKENSHIP; MITCHELL, 2006).

Esse arranjo auxilia o patógeno em alguns aspectos, como na elevada

capacidade de adesão às superfícies, sobrevivência em condições adversas, resistência aos antimicrobianos e potencialização de fatores de virulência, uma vez que, a dispersão de células maduras de biofilme estão associadas a infecções fúngicas com fenótipo de resistência a medicamentos e maior virulência desses organismos (BLANKENSHIP; MITCHELL, 2006; BRUNKE et al., 2016). Assim, este estudo teve como objetivo caracterizar biofilmes formados e avaliar sua resistência frente à anfotericina B por uma cepa pertencente ao complexo *Fusarium solani* em cateter venoso.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### Isolado

O estudo foi realizado com uma espécie pertencente ao complexo *Fusarium solani* ATCC 36031, mantida na Micoteca do Laboratório de Micologia Médica da Universidade Estadual de Maringá a temperatura de -80 °C. O fungo foi reativado em caldo Sabouraud e após o crescimento, foi confirmado a identificação por meio das características macroscópicas e microscópicas. Para cada teste, foi realizado uma cultura em ágar batata (PDA) por 5 dias a 25 °C. Após o crescimento, a cultura foi raspada e os conídios de *F. solani* foram recolhidos em solução salina a 0,8% e filtrados para eliminar a presença de hifas. A viabilidade dos conídios foi determinada com azul de Trypan (0,4%) em câmara de Neubauer e a concentração do inóculo determinada de acordo com cada experimento.

### Capacidade de formação de biofilme

O biofilme foi formado em fragmentos de cateter venoso cortados assepticamente no tamanho de 0,5 cm, inseridos em placa de poliestireno de 96 poços em proporção 1:1 de RPMI 1640 (RPMI Medium 1640; Gibco, Grand Island, NY, United States) com glutamina-I (bicarbonato de sódio) e 0.165M de ácido 3-(N-morfolino)-propanossulfônico (pH 7.2) como tampão (Sigma-Aldrich, St. Louis, United States) e inóculo de  $1 \times 10^7$  de conídios/mL a 37 °C por 24, 48, 72 e 96 horas, sendo a cada 24 horas realizada a renovação da metade do volume do meio de cultura (RPMI).

### Avaliação da cinética e dispersão do biofilme

O biofilme foi avaliado em termos de: enumeração do número de fungos cultiváveis em unidades formadoras de colônia (UFC); biomassa do biofilme total usando o tradicional método de coloração de cristal violeta (CV) e atividade metabólica mitocondrial (2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazólio-5-carboxanilide)

ensaio de redução (XTT) (GALLETTI et al., 2017).

### Atividade antibiofilme

A preparação, diluição e distribuição da anfotericina B (AB; Sigma, Belgium) em microplaca foi realizada conforme o método de microdiluição em caldo, protocolo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2008) M38-A2. Após a formação do biofilme da cepa do complexo *F. solani* durante 96 horas (como descrito acima), os fragmentos de cateteres com este biofilme foram transferidos para a microplaca contendo AB nas concentrações de 0,03 a 16 µg/mL. Subsequente, a microplaca foi incubada por 48h a 35 °C. Após este período, os fragmentos contendo o biofilme em contato com cada concentração de AB foram transferidos para um tubo, contendo 500 ul de tampão fosfato-salina (PBS pH 7,0; 0,1M) e sonicados por 10 segundos a uma frequência de 35% para o desprendimento do biofilme do cateter. Após a sonicação as amostras foram homogeneizadas em vortex por 1 minuto, realizada uma diluição seriada e plaqueada cada diluição em placas contendo SDA e incubadas por 48h a 25 °C para determinar a concentração capaz de erradicar o biofilme em unidade formadora de colônias por mililitro (UFC/ml).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do biofilme realizada entre o período de 24 horas a 48 horas demonstrou que o biofilme estava em período de crescimento, onde as UFC foram crescentes, a biomassa total e a atividade metabólica mitocondrial também (Tabela1).

A maturação passou a ser considerada entre 48 horas e 72 horas, onde o crescimento se manteve estável para UFC (de 0,50 para 0,52 Log<sub>10</sub>/cm<sup>2</sup>) e biomassa total (de 0,03 para 0,04 Abs/cm<sup>2</sup>), exceto a atividade metabólica que já iniciou um declínio no período apresentado (de 0,06 para 0,02 Abs/cm<sup>2</sup>). Esse aumento da quantidade de biomassa pode ser caracterizado pela formação de hifas, o que é importante para a formação robusta de biofilme de fungos filamentosos (BLANKENSHIP; MITCHELL, 2006).

Já a dispersão ocorreu a partir de 72 horas a 96 horas, quando houve diminuição dos parâmetros avaliados: UFC de 0,52 para 0,33 Log<sub>10</sub>/cm<sup>2</sup>; biomassa total de 0,04 para 0,01 Abs/cm<sup>2</sup>. A atividade metabólica mitocondrial seguiu decaindo de 0,02 para 0,01 Abs/cm<sup>2</sup>. Os valores do ensaio de redução XTT no presente estudo diminuíram com o tempo, sugerindo redução na atividade metabólica dos biofilmes. Esse resultado corrobora com de outros autores, onde os biofilmes de *Fusarium* exibem cinética oposta a atividade metabólica. Esta baixa atividade metabólica pode ser devida ao aumento da adsorção de compostos no biofilme matriz, significando que há menos contato entre o sal de tetrazólio e as células de biofilme maduro

(GALLETTI et al., 2017).

É provável que vários processos-chave desempenhem papéis vitais nesses diferentes estágios de desenvolvimento do biofilme, como aderência de células-substrato e células-células, desenvolvimento de hifas e detecção de comunicação do biofilme.

	UFC (Log10/cm <sup>2</sup> )	CV (Abs/cm <sup>2</sup> )	XTT (Abs/cm <sup>2</sup> )
24h	0,48	0,02	0,04
48h	0,50	0,03	0,06
72h	0,52	0,04	0,02
96h	0,33	0,01	0,01

Tabela 1. Avaliação das atividades para uma espécie do complexo *Fusarium solani* ao longo do tempo.

UFC: unidade formadora de colônia; CV: método de cristal de violeta para avaliar a biomassa total; XTT: método para avaliar a atividade celular; abs: absorbância.

Posteriormente ao período de 96 horas (Figura 1) do biofilme da cepa do complexo *F. solani*, foi verificada a capacidade antibiofilme de anfotericina B. Foi possível observar que não ocorreu a inibição do biofilme da cepa do complexo *F. solani* em nenhuma das concentrações estudadas, havendo crescimento do fungo, recuperado após 48 horas em contato com a droga, indicando que como esperado, o biofilme aumenta a resistência de fungo a droga e mostra a necessidade do desenvolvimento de novas classes de medicamentos antimicóticos (DA ROSA et al., 2019). Diante do exposto, é possível afirmar que a formação de biofilme em cateter é uma ocorrência de alta gravidade, visto que pode acometer pacientes imunocomprometidos e o antifúngico usado na clínica médica não obteve sucesso em inibir o biofilme de uma cepa do complexo *F. solani*, indicando assim a preocupação da resistência a antifúngicos por meio da formação de biofilme.

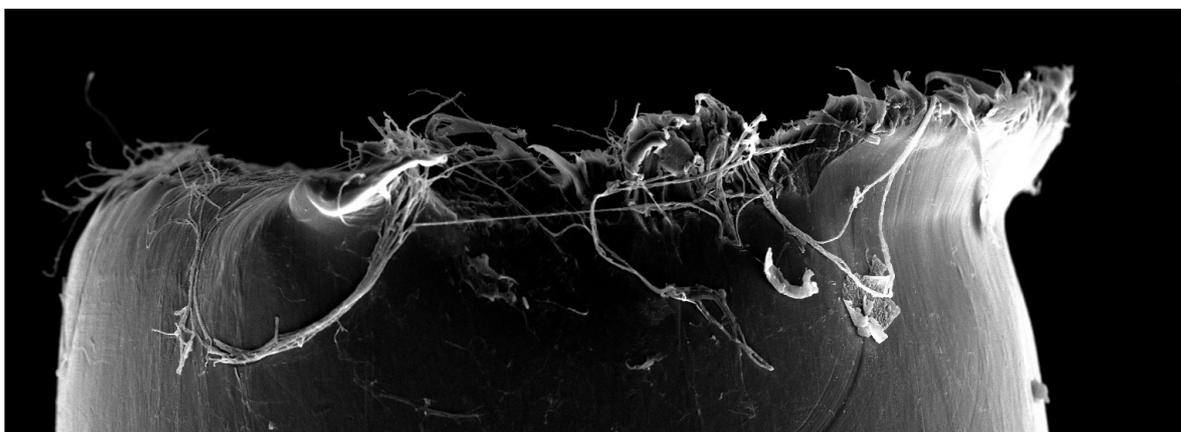


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura após 96h de formação de biofilme de uma cepa do complexo *Fusarium solani* em fragmento de cateter venoso.

## 4 | CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, avaliação da cinética do biofilme de *F. solani*, é possível afirmar que esta espécie é capaz de formar biofilme em cateter venoso, o mesmo se matura entre 48 e 72 horas e, se dispersa entre 72 e 96 horas, além de se mostrar resistente ao antifúngico de escolha à tratamento sistêmico (anfotericina B) o que pode causar um agravamento da infecção.

## 5 | AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi apoiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), nº 421620 / 2018-8 e bolsa de iniciação científica da PIBIC/CNPq-FA-UEM.

## REFERÊNCIAS

BLANKENSHIP, J. R.; MITCHELL, A. P. **How to build a biofilm: a fungal perspective**. 2006. 588–594p.

BRUNKE, S. et al. **Virulence factors in fungal pathogens of man**. 2016. 89–95p.

Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI] (2008). **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi**; Approved Standard, 2nd ed. CLSI Document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

DA ROSA, P. D. et al. Epidemiological aspects and characterization of the resistance profile of *Fusarium* spp. in patients with invasive fusariosis. p. jmm001059, ago. de 2019.

GALLETTI, J. et al. **Antibiofilm activity of propolis extract on *Fusarium* species from onychomycosis**. 2017. 1311–1321p.

NUCCI, M.; ANAISSIE, E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 4, p. 695–704, out. de 2007.

**Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI] (2008)**. Disponível em: <[https://clsi.org/media/1455/m38a2\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1455/m38a2_sample.pdf)>. Acesso em: 11 set. 2019.

## NOTIFICAÇÃO DOS EVENTOS ADVERSOS PÓS-VACINAÇÃO EM CRIANÇAS DE 0 A 5 ANOS

### Zannety Conceição Silva do Nascimento Souza

Mestrado em Enfermagem com ênfase em Saúde da Mulher (UFBA), Professora Assistente do Departamento de Saúde da Universidade Estadual de Feira de Santana-BA, Pesquisadora do Núcleo de Extensão e Pesquisa em Saúde da Mulher – NEPEM.

### Tuany Peixoto Ramos

Enfermeira graduada pela Universidade Estadual de Feira de Santana-BA.

### Raquel Vieira Farias

Discente do curso graduação em Enfermagem da Universidade Estadual de Feira de Santana-BA. Bolsista de Iniciação Científica pelo Núcleo de Extensão e Pesquisa em Saúde da Mulher - NEPEM.

### Karine Emanuelle Peixoto de Souza

Mestrado em Saúde Coletiva (UEFS), Professora Assistente do Departamento de Saúde da Universidade Estadual de Feira de Santana-BA, Pesquisadora do Núcleo de Extensão e Pesquisa em Saúde da Mulher – NEPEM.

### Juliana de Oliveira Freitas Miranda

Doutora em Enfermagem (UFBA), Professora Adjunta do Departamento de Saúde da Universidade Estadual de Feira de Santana-BA, Pesquisadora do Núcleo de Epidemiologia-NEPPIM.

### Maricélia Maia de Lima

Doutoranda em Saúde Coletiva (UEFS), Mestrado em Enfermagem (UFBA), Professora Assistente do Departamento de Saúde da Universidade

Estadual de Feira de Santana-BA, Pesquisadora do Núcleo de Pesquisa e Extensão de Vigilância em Saúde – NUPEVS.

**RESUMO: Objetivo:** analisar as notificações dos eventos adversos em crianças de 0 a 5 anos em um município da Bahia - Brasil. **Método:** estudo quantitativo, transversal, retrospectivo, descritivo, em um Programa Municipal de Imunização, com coleta entre fevereiro e abril de 2018. Os dados de 65 fichas de notificação foram organizados pelo *Statistical Package for Social Sciences* versão 9.0 analisadas com a literatura pertinente. **Resultados:** as notificações se referem a crianças menores de um ano (64,1%), do sexo feminino (60%), residentes na zona urbana (91,2%), que não estavam em aleitamento materno (51%). Os eventos estiveram associados à vacina pentavalente (16,2%), via intramuscular (57,14%); houve reações locais (58,6%) e febre (24,6%), predominando os não graves (68,5%), seguidos dos erros de imunização (18,6%). **Conclusão:** a completude das fichas de notificação respalda a avaliação dos eventos adversos e as ações estratégicas frente a estes. **PALAVRAS-CHAVE:** Imunização ativa. Vacinação. Eventos adversos. Determinantes sociais da saúde. Programas de Imunização.

## NOTIFICATION OF ADVERSE POST-VACCINATION EVENTS IN CHILDREN 0 TO 5 YEARS

**ABSTRACT: Objective:** To analyze the notifications of adverse events in children from 0 to 5 years old in a municipality of Bahia- Brazil. **Method:** quantitative, cross-sectional, retrospective, descriptive study in a Municipal Immunization Program, collected between February and April 2018. Data from 65 notification forms were organized by the Statistical Package for Social Sciences version 9.0 analyzed with the relevant literature. **Results:** the reports refer to children under one year (64.1%), female (60%), urban residents (91.2%), who were not breastfeeding (51%). The events were associated with the pentavalent vaccine (16.2%), intramuscularly (57.14%); there were local reactions (58.6%) and fever (24.6%), predominating non-severe ones (68.5%), followed by immunization errors (18.6%). **Conclusion:** The completeness of the notification forms supports the assessment of adverse events and strategic actions against them.

**KEYWORDS:** Active immunization. Vaccination. Adverse events. Social determinants of health. Immunization Programs.

### 1 | INTRODUÇÃO

Imunizar as pessoas tem sido uma estratégia na área de saúde pública para a redução de doenças infecciosas e mortes por agravos imunopreveníveis, contribuindo com o aumento da expectativa e qualidade de vida da população (FIOCRUZ, 2016).

A vacina pode ser composta pelo próprio microrganismo causador da doença, porém, enfraquecido, com ele morto ou com partes desses agentes infecciosos como: proteínas, carboidratos e outros. As vacinas compostas pelo agente biológico vivo atenuado, geralmente, necessitam de apenas uma dose para imunizar o indivíduo para vida toda, porém, com maior risco de eventos adversos (BRASIL, 2014a). Já nas vacinas com o microrganismo morto, a imunidade é conseguida de forma gradual, necessitando de mais de uma dose, sendo que a maior preocupação é manter um controle das doses já tomadas pelo indivíduo, visto que, o cartão de vacina muitas vezes é perdido pelo usuário (BRASIL, 2014b).

Neste contexto e com o processo de expansão e evolução dos imunobiológicos foram surgindo intecorrências associadas à vacinação, denominadas eventos adversos. O Evento Adverso Pós-Vacinação (EAPV) é definido pelo Ministério da Saúde (MS) do Brasil como qualquer manifestação clínica indesejada que ocorra após o procedimento (BRASIL, 2014c).

Os EAPV podem estar relacionados com a natureza e característica dos imunobiológicos, denominados eventos esperados, ou estes podem ser decorrentes de problemas associados à qualidade do produto, chamados de eventos inesperados, como quantidade de endotoxina presente na vacina e contaminação de lotes. As

reações esperadas mais comuns, como febre, dor e vermelhidão local, na maioria das vezes, são consideradas benignas, pois, acontecem devido ao reconhecimento de um agente estranho pelo sistema de defesa do organismo; entretanto, podem acontecer eventos mais graves como convulsões febris, episódio hipotônico-hiporresponsivo, anafilaxia e outros (BRASIL, 2014c).

É importante esclarecer ao usuário e/ou responsáveis quais os sinais e sintomas dos eventos esperados e inesperados que podem aparecer após a vacinação e caso estes eventos apareçam deve-se retornar à unidade de saúde o mais rápido possível para a realização da notificação e acompanhamento do caso (BRASIL, 2014c).

A investigação dos EAPV é um procedimento complexo, visto que a maioria dos imunobiológicos possuem reações semelhantes e muitos são administrados simultaneamente. Para o sucesso deste acompanhamento, é necessária atenção quanto ao tipo do imunobiológico, características do evento e antecedentes vacinais da criança que são informações presentes na ficha de notificação, complementadas a partir do seguimento do caso notificado pelas instâncias do Programa de Imunização a nível municipal e estadual.

A portaria nº 1.271 de 6 de junho de 2014, tornou obrigatória a notificação compulsória de EAPV. A mesma deve acontecer com todos os eventos que retornarem à unidade de saúde, por demanda espontânea. O instrumento de notificação deve ser utilizado pelos serviços de saúde para promover o registro de doenças e agravos, permitindo a comunicação com os órgãos responsáveis pela fiscalização e controle de doenças notificáveis (BRASIL, 2014d).

No município que serviu de campo para este estudo foi identificado, no cotidiano de algumas unidades de saúde, a existência de falhas no preenchimento das fichas do EAPV para Secretaria Municipal de Saúde (SMS), o que pode ser resultado da falta de conhecimento ou compromisso dos profissionais envolvidos neste processo.

Nessa perspectiva, o enfermeiro tem uma participação significativa no processo de notificação de EAPV que ocorrem nos serviços de saúde, entretanto, ainda existem lacunas no seu conhecimento, fato este que se reflete na incidência de eventos evitáveis. Este problema poderia ser solucionado por meio da sensibilização dos gestores e enfermeiros sobre a necessidade da formação de recursos humanos e educação permanente nos serviços de saúde (BISETTO; CUBAS; MALUCELLI, 2011).

Diante da relevância da notificação dos EAPV, este estudo teve como objetivo analisar as notificações dos eventos adversos em crianças de 0 a 5 anos em município da Bahia – Brasil.

## 2 | MÉTODO

Estudo quantitativo, descritivo, retrospectivo, de corte transversal realizado em um município da Bahia, Brasil. A população do estudo foi composta por crianças

de 0 a 5 anos selecionadas a partir das fichas de registros de notificação de EAPV, apresentadas junto ao Programa de Imunização no ano de 2017. Os critérios de inclusão foram: as fichas de notificação de EAPV do ano de 2017, de crianças de 0 até 5 anos de idade, já lançadas no Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunização (SI-PNI). Os critérios de exclusão foram: fichas duplicadas e idade superior a 5 anos.

Os dados foram levantados a partir da análise documental das fichas de notificações feitas ao Programa de Imunização que está situado na Secretaria Municipal de Saúde (SMS). Durante a coleta de dados, no período de fevereiro a abril de 2018, foram encontradas 113 notificações ao longo do ano de 2017, sendo 65 de crianças na faixa etária estabelecida para a pesquisa.

Como instrumento de coleta de informações utilizou-se um formulário que foi construído a partir da adaptação da ficha de notificação e investigação de EAPV composto pelas seguintes variáveis: idade, sexo, zona de habitação e aleitamento materno dos participantes, data da notificação, função do responsável que preencheu a notificação, imunobiológico, estratégia, dose, via e local de administração, evento adverso provável, tipo de evento, manifestações clínicas do EAPV divididas por sistemas, tempo de início da manifestação, acompanhamento e atendimento médico, diagnóstico médico, e evolução do caso.

As 65 fichas coletadas foram lançadas e tabuladas em planilhas eletrônicas no *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 9.0. Dessa forma, foi criada no editor de dados desse programa, a máscara da pesquisa com todas as variáveis já citadas acima, totalizando 155 variáveis, sendo agregados valores numéricos para cada variável. Após essa etapa, foram lançadas todas as informações da ficha. A análise foi feita por meio da estatística descritiva e os resultados foram apresentados sob a forma de tabelas de frequências absolutas e relativas dos dados categóricos nominais.

Durante o desenvolvimento do estudo foram respeitadas as normas e diretrizes estabelecidas pela Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012), sendo a pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), sob o Parecer nº 2.411.828 e CAAE nº 78013517.4.0000.0053. Os princípios éticos foram contemplados na pesquisa, assegurando o direito à confidencialidade das pessoas cujo EAPV foi notificado, garantindo a não utilização dos nomes ou informações que pudessem identificar os participantes.

### **3 | RESULTADOS**

Neste estudo, foram selecionadas para análise 65 fichas de notificações de eventos adversos pós-vacinação em crianças de 0 a 5 anos de idade no ano de 2017,

correspondendo a 57,5% das notificações. A distribuição dos dados sociodemográficos e do aleitamento materno das crianças está apresentada na Tabela 1.

<b>Variáveis sociodemográficas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Idade</b>		
Menor de 1 ano	41	
1 ano	12	64,1
3 anos	02	18,8
4 anos	08	3,1
5 anos	01	12,5
Informações perdidas*1	01	1,6
<b>Sexo</b>		
Masculino	26	40,0
Feminino	39	60,0
<b>Zona de habitação</b>		
Zona urbana	54	91,5
Zona rural	05	8,5
Informações perdidas*2	06	
<b>Aleitamento materno</b>		
Sim	25	49,0
Não	26	51,0
Informações perdidas*3	14	-

Tabela 1 - Distribuição dos eventos adversos em crianças de 0 a 5 anos segundo variáveis sociodemográficas (idade, sexo, local de moradia) e aleitamento materno, Bahia, Brasil, 2018. (N=65)

Fonte: Fichas de EAPV-SMS, Bahia, 2018.

\*11 ficha estava com o campo idade em branco. \*2 6 fichas estavam com o campo zona em branco. \*314 fichas estavam com o campo aleitamento materno em branco.

A Tabela 2 descreve a distribuição dos EAPV segundo tipo de vacina sendo a pentavalente a mais associada a eventos (16,2%), seguida da pneumocócica (12,6%), BCG e DTP (11,7% cada uma), como visto na Tabela 2.

<b>Tipo de vacinas notificadas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Pentavalente	18	16,2
Pneumocócica	14	12,6
BCG	13	11,7
DTP	13	11,7
Rota vírus humano	11	9,9
Vacina inativada da poliomielite (VIP)	10	9,0
Meningocócica	07	6,3
Hepatite B	06	5,4
Febre amarela	04	3,6
Hepatite A	04	3,6
Influenza	04	3,6
Tríplice viral (SCR)	04	3,6
Vacina oral da poliomielite (VOP)	03	2,7

Tabela 2 - Distribuição dos EAPV em crianças de 0 a 5 anos segundo tipo de vacinas notificadas. Bahia, Brasil, 2018. (N=65)

Fonte: Fichas de EAPV-SMS, Bahia, 2018.

\*Houve mais de um tipo de vacina por EAPV identificado

Os dados relativos às manifestações clínicas locais e sistêmicas observadas nas crianças em decorrência de EAPV estão descritas na Tabela 3. Foram identificadas 186 manifestações, destas 109 foram manifestações locais (58,6%) seguidas de 77 sistêmicas (41,4%).

<b>Manifestações sistêmicas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Febre	19	24,6
Petéquias	08	10,4
Exantema	07	9,1
Diarreia	06	7,8
Choro persistente	06	7,8
Agitação	04	5,2
Vômito	04	5,2
Vermelhidão na pele	03	3,9
Cianose	03	3,9
Convulsão	03	3,9
Urticária	02	2,6
Letargia	02	2,6
Abscesso axilar	02	2,6
Choque cardiogênico	01	1,3
Gânglio flutuante	01	1,3
Palidez	01	1,3
Inconsciência	01	1,3
Melena	01	1,3
Cólica	01	1,3
Dispneia	01	1,3
Tosse	01	1,3
<b>Manifestações locais</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Abscesso quente	13	11,9
Abscesso frio	07	6,4
Dor	22	20,1
Calor	14	12,8
Edema	14	12,8
Rubor	16	14,7
Celulite	02	1,9
Enduração	04	3,7
Empolgação	02	1,9
Pústula	02	1,9
Nódulo	13	11,9

Tabela 3 - Distribuição dos EAPV em crianças de 0 a 5 anos segundo manifestações sistêmicas e locais. Bahia, Brasil, 2018. (N=65)

Fonte: Fichas de EAPV-SMS, Bahia, 2018.

\*Houve mais de um tipo de manifestação clínica por EAPV identificado

Em relação ao tipo de evento, predominaram os eventos adversos não graves (EANG) (68,5%), seguidos dos erros de imunização (EI) com e sem EAPV (18,6%), como ilustrado na Tabela 4.

<b>Tipo de EAPV</b>	<b>N*</b>	<b>%</b>
Eventos Adversos Não Graves	37	68,5
Erros de Imunização com e sem EAPV	10	18,6
Eventos Adversos Graves	6	11,1
Inclassificável	1	1,9
Informação perdida*	*	-

Tabela 4 - Distribuição dos EAPV em crianças de 0 a 5anos segundo tipo de evento. Bahia, Brasil, 2018. (N=65)

Fonte; Fichas de EAPV-SMS, Bahia, 2018.

\*Das 65 fichas, 11 estavam com este campo em branco

Quanto à distribuição dos EAPV por via e local de administração da vacina, predominaram os eventos de vacinas aplicadas por via intramuscular (57,14%), no membro inferior direito (MID) (36%), como mostra a Tabela 5.

<b>Via</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Intramuscular	44	57,1
Oral	14	18,2
Intradérmica	12	15,6
Subcutânea	7	9,1
<b>Local de aplicação</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Membro Inferior Direito	27	36,0
Membro Inferior Esquerdo	20	27,0
Membro Superior Direito	12	16,0
Membro Superior Esquerdo	6	8,0
Membro Inferior Vasto Lateral da Coxa	4	5,3
Deltoide	3	4,0
Inserção do deltóide	3	4,0

Tabela 5 - Distribuição dos EAPV em crianças de 0 a 5 anos segundo local de administração da vacina. Bahia, Brasil, 2018. (N=65)

Fonte: Fichas de EAPV-SMS, Bahia, 2018.

## 4 | DISCUSSÃO

Em relação aos aspectos sócio demográficos, destacados na Tabela 1, estudos realizados em Pernambuco e Goiás sobre EAPV também mostraram que eventos ocorreram mais em crianças menores de um ano, sendo justificada esta ocorrência pela grande quantidade de doses e imunobiológicos diferentes administrados nessa faixa etária, bem como a imaturidade do sistema imune destas. Já em relação ao sexo, estes mesmos estudos apontaram que os eventos adversos aconteceram predominantemente no sexo masculino diferentemente desta pesquisa. Em

contrapartida, citam também uma pesquisa realizada pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), com crianças, mostrando que as notificações de EAPV ocorreram de forma proporcional entre os sexos concluindo que esta variável não tem muita relevância nos EAPV, pois os resultados dos estudos não seguiram um padrão bem como não apresentaram justificativas (SANTOS; PONTES NETTO; ANDRADE, 2016; BRAGA et al., 2017).

Em relação à zona de habitação, 91,5% das notificações ocorreram na zona urbana; porém, é necessário discutir a importância da supervisão rigorosa destes acontecimentos na zona rural. Os achados não permitem concluir se este número reduzido de EAPV na zona rural está relacionado à subnotificação por parte do vacinado, serviço ou até mesmo ao acesso do vacinado à unidade de saúde, associado ao conhecimento da população de quais eventos precisam ser informados à equipe. Pesquisa realizada em um município da Zona da Mata em Minas Gerais constatou que a presença de salas de vacina na zona rural se constituiu como um ponto positivo para maior acessibilidade da população às vacinas do programa; porém, um enfermeiro para supervisionar 03 salas de vacina no âmbito rural pode interferir negativamente no acompanhamento das atividades desenvolvidas (ELISIÁRIO et al., 2017).

No que se refere à amamentação e eventos adversos, verificou-se um número bem aproximado entre crianças lactentes e não lactentes com notificação de eventos adversos. De acordo com a Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP, 2017), amamentar e vacinar são ações que em conjunto podem proteger de forma mais eficaz as crianças, pois quando o bebê mama ao peito, responde rápido ao efeito do imunobiológico com a produção de anticorpos e o leite materno diminui a agressividade do agente infeccioso.

Ao se analisar a Tabela 2, percebe-se a predominância da vacina pentavalente como principal causadora de evento, o que precisa ser avaliado com rigor, visto que a mesma geralmente é aplicada simultaneamente com outras vacinas.

Pesquisa realizada em Pernambuco referente à análise dos EAPV nas crianças vacinadas entre os anos de 2009 até 2013 mostrou que as vacinas que estavam mais associadas a eventos adversos eram a tetravalente seguida da pentavalente (SANTOS; PONTES NETTO; ANDRADE, 2016). Observa-se que ambas as vacinas possuíam o componente *Pertússis* em sua composição, e este é o principal responsável por essas reações indesejáveis, que em sua maioria são eventos adversos leves, de resolução espontânea, que não geram complicações ou sequelas (BRASIL, 2014).

A vacina pneumocócica apareceu como a segunda mais reativa; porém, como ela é administrada concomitantemente com a pentavalente, torna-se difícil afirmar quando acontecem eventos adversos característicos de ambas, o que foi causado por uma ou outra (BRASIL, 2014b).

A Tabela 3 apresenta as manifestações locais, que são eventos que ocorrem no local da administração vacinal, ou próximo do mesmo, sendo uma resposta da

introdução da agulha e do conteúdo vacinal no tecido muscular, tendo geralmente, bons prognósticos que evoluem para cura espontânea (BRASIL, 2014c).

Predominaram nesse estudo como manifestações locais a dor (20,1%), rubor (14,7%), edema (12,8%) e calor (12,8%) respectivamente; estes sinais são característicos de uma inflamação que é uma resposta do organismo ao agente agressor, caracterizado pela saída de líquidos e de células do sangue para o interstício.

O mecanismo de ação inicia quando um agente inflamatório (agulha e conteúdo vacinal) lesam o tecido, este libera histamina e prostaglandina que promovem a vasodilatação aumentando a permeabilidade vascular possibilitando a migração dos neutrófilos do vaso para o tecido afetado, fagocitando os microrganismos e as células mortas. O aumento do fluxo sanguíneo para a área afetada faz com que o local gere calor e fique vermelho (rubor); o edema acontece devido ao aumento de permeabilidade vascular que faz com que o plasma sanguíneo passe para o interstício, este, por sua vez, comprime terminações nervosas, juntamente com a prostaglandina que irrita essas terminações, ocasionando outro sinal flogístico que é a dor (KARPINSKI, 2010).

Nas vivências nos serviços de atenção primária à saúde, foi possível observar que os profissionais de sala de vacina costumavam orientar as mães ou responsáveis sobre o uso de compressas geladas para eventos locais como os que apareceram no estudo. Essa orientação condiz com o preconizado pelo Manual de Vigilância Epidemiológica de Eventos Adversos Pós-Vacinação do MS, que de acordo com as circunstâncias podem ser prescritas as compressas frias, nas primeiras 24 a 48 horas após a administração, havendo dor e reações locais intensas (BRASIL, 2014c).

Por outro lado, em relação às manifestações sistêmicas, sobressaiu a febre, que se trata da elevação da temperatura axilar  $\geq$  que 37,5°C e consiste em uma resposta imunológica pelo qual o organismo reconhece e responde à substância que considera estranha para o nosso organismo (antígeno). Os antígenos induzem as nossas células de defesa a produzirem fatores endógenos, estes estimulam o hipotálamo a produção de prostaglandina sendo responsável por elevar o ponto de regulação térmica do centro termorregulador hipotalâmico, ocasionando a febre (MAGALHÃES et al., 2002).

Portanto, é importante orientar ao usuário que em caso de febre, após a vacinação, o mesmo retorne ao serviço que fez a administração do imunobiológico para proceder a avaliação do quadro, prescrição do antitérmico e a notificação do evento. É necessário refletir que a orientação às mães precisa contemplar o fato de que qualquer sinal ou sintoma após a vacinação, sendo este leve ou grave, precisa ser comunicado ao serviço; e por mais que existam demandas diversas, a notificação dos EAPV pelas unidades de saúde deve ser uma prática, pois favorece a vigilância epidemiológica do município e respalda as estratégias de melhoria do atendimento.

Observando a Tabela 4, nota-se que os EANG se sobressaíram dentre os

outros, confirmando o dado do MS que os eventos mais comuns de acontecerem são os não graves, como dor e febre baixa, e os graves acontecem na estatística de 1 caso a cada 1000 doses (BRASIL, 2014c).

O que mais chama atenção nessa tabela são os erros de imunização com 18,6% por serem erros preveníveis. Foram observadas algumas características desses erros nas fichas de notificação estudadas como: erros decorrentes de vacina aplicada em local e via errados por falta de contenção adequada da criança; vacinas aplicadas com intervalo inadequado entre as doses, devido apresentação pelo responsável de cartão incompleto já substituído, que não constava todas as vacinas anteriores e vacina rotavírus humano (VRH) aplicada com a data de validade vencida.

Foram identificados ainda três erros de imunização classificados como EANG, pela pessoa que preencheu a ficha e depois notado um erro de classificação; assim, é importante destacar que, haveria menos chance de classificação inadequada, se alguns itens da ficha de notificação fossem preenchidos somente após a investigação, por exemplo, a classificação do tipo do EAPV, bem como se houvesse fidedignidade dos detalhes mesmo quando o responsável pelo preenchimento fosse o mesmo profissional que cometeu o erro.

Vale destacar que neste item que selecionou o tipo de evento, estão agrupadas duas classificações distintas de EAPV: sendo uma classificação relacionada à gravidade e a outra a causalidade. Este agrupamento faz com que seja escolhida apenas uma classificação de EAPV, sendo que uma não anula a outra, gerando perdas de informações. Existem também informações que a depender de quem preencha podem gerar dúvida quanto à fidedignidade.

Algumas medidas simples podem evitar alguns desses erros como: adoção de protocolos, com o passo a passo sobre situações que devem ser evitadas e normas de segurança que devem ser sempre observadas; realizar educação continuada em serviço de forma sistematizada, sobre as vacinas novas incluídas no calendário; abordar discussões abertas e transparentes sobre os erros de imunização ocorridos e apresentar maneiras para solucioná-los.

Ainda em relação aos tipos de EI mais frequentes, estudo realizado em Goiânia, que avaliou o período de 2012 a 2013, encontrou os seguintes: administração de vacina errada como a VOP no lugar da VIP; aplicação de vacinas fora da idade recomendada de acordo com o calendário vacinal; vacinas aplicadas com data de validade vencida e superdosagem da BCG (BRAGA et al., 2017).

Erros podem ser frutos da falta de atenção ou da interferência do excesso de demandas do próprio serviço, já que os profissionais na sala de vacina realizam todas as atividades, desde a recepção, triagem, administração de imunobiológico, orientações, agendamento da próxima dose e identificação de eventos adversos (BRITO et al., 2014).

De acordo com o manual de vigilância de EAPV (BRASIL, 2014c), os EAG são aqueles que precisam de hospitalização por pelo menos 24 horas ou prolongue

uma hospitalização já existente, deixe sequelas, cause anomalia congênita, risco de morte ou óbito e os EANG são todos aqueles que não estão inclusos nos graves. Estudos mostraram que, um grande percentual dos eventos adversos da vacina era não grave, confirmando que o risco de um EAPV grave ocorrer era bem menor do que o risco de um usuário contrair a doença para a qual estava sendo imunizado (SANTOS; PONTE NETTO; ANDRADE, 2016; SALES et al., 2017).

Associando a Tabela 5, às manifestações apresentadas nesta pesquisa, houve predominância de manifestações locais nos EAPVs notificados, o que está relacionado ao fato da injeção causar uma lesão mecânica tecidual.

Em se tratando da segurança do usuário, algumas recomendações do MS, podem prevenir eventos adversos por falhas na aplicação. É importante conhecer que para crianças menores de 2 anos, é permitida a administração simultânea de 02 vacinas no vasto lateral da coxa, desde que sinalize o lado no registro do cartão; deve-se manter uma distância de 2,5 cm entre os locais de aplicação; atentar para higiene das mãos, manipulação cuidadosa do frasco e da agulha; antissepsia local com algodão seco; contenção da criança no colo da acompanhante com a perna fletida; validade; aprazamento anterior com confirmação do intervalo antes de aplicação, bem como o aprazamento seguinte; conferir vacinas que não podem ser administradas no mesmo dia, bem como respeitar os intervalos mínimos e máximos entre as doses (BRASIL, 2014c).

## 5 | CONCLUSÃO

As notificações dos eventos adversos em crianças de 0 a 5 anos, no ano de 2017, denotaram maior frequência da ocorrência destes em menores de 1 ano, do sexo feminino, que moravam na zona urbana e que não estavam em aleitamento materno. Em relação ao tipo de vacina, os EAPV predominaram na administração da vacina pentavalente e as crianças cursaram com febre e dor. Os eventos foram do tipo não grave e a via de administração dos imunobiológicos mais utilizada foi a intramuscular, no membro inferior direito.

O estudo possui limitações por ser baseado em dados secundários, podendo existir subnotificação da ocorrência de EAPV e preenchimento inadequado da ficha de investigação, interferindo na qualidade das informações coletadas.

As fichas de notificação de EAPV são importantes instrumentos para a vigilância epidemiológica de um município; porém, identificou-se nessa pesquisa que o preenchimento dessas não segue um padrão, gerando informações repetidas ou ausência de dados importantes. Nesse sentido, seria necessário trabalhar as dificuldades da equipe para a completude das fichas, visto que estas respaldam a avaliação dos eventos adversos e as ações estratégicas.

O enfermeiro como coordenador e supervisor da equipe de Enfermagem da sala

de vacina deve estar atento para o desenvolvimento das atividades no setor, bem como para a habilidade técnica e relacional dos técnicos de Enfermagem, garantindo a segurança da equipe e da comunidade.

## REFERÊNCIAS

- BISETTO, L.H.L.; CUBAS, M.R.; MALUCELLI, A. **A prática da enfermagem frente aos eventos adversos pós-vacinação**. Rev Esc Enferm USP, 2011; 45(5):1128-34. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v45n5/v45n5a14.pdf>. Acesso em: 8 julho de 2019
- BRAGA, P.C.V. et al. **Incidência de Eventos Adversos pós-vacinação em Crianças**, Revista de Enfermagem UFPE, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufpe.br/revistas/revistaenfermagem/article/download/231174/25144>. Acesso em: 23 de julho de 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012**. Diretrizes e Normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Conselho Nacional de Saúde. DF: Conselho Nacional de Saúde, 2012. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466\\_12\\_12\\_2012.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html). Acesso em: 18/11/2018.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria nº1271, Lista nacional de notificações compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional**, 2014. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt1271\\_06\\_06\\_2014.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt1271_06_06_2014.html). Acesso em: 24 de março de 2017.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual dos Centros de Referências para Imunobiológicos Especiais - CRIEs** 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014a. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_centro\\_referencia\\_imunobiologicos.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_centro_referencia_imunobiologicos.pdf). Acesso em: 21 de março de 2017.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual de Normas e Procedimentos para a Vacinação** 4 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014b. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_procedimentos\\_vacinacao.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_procedimentos_vacinacao.pdf). Acesso em: 21 de março de 2017.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância Epidemiológica de Eventos Adversos Pós Vacinação** 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014c. Disponível em: [http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/-01VACINA/manual\\_Eventos\\_adversos.pdf](http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/-01VACINA/manual_Eventos_adversos.pdf). Acesso em: 21 de março de 2017.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual do Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunizações SIIPI**. Brasília. Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações (CGPNI), 2014d. Disponível em: [http://www.saude.campinas.sp.gov.br/vigilancia/vacinacao/2016/manual\\_SIPNI\\_fev\\_2014.pdf](http://www.saude.campinas.sp.gov.br/vigilancia/vacinacao/2016/manual_SIPNI_fev_2014.pdf). Acesso em: 22 de março de 2017.
- BRITO et al., **Caracterização das notificações de procedimentos inadequados na administração de imunobiológicos em Ribeirão Preto, São Paulo**, 2007-2012, Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, p.41, 2014. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2237-96222014000100033&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2237-96222014000100033&script=sci_abstract&tlng=pt). Acesso em: 23 de julho de 2018.
- ELISÁRIO, R.N. et al. **Avaliação das salas de vacinas nas unidades de estratégia de saúde da família**. Enfermagem revista, Viçosa- MG, 2017. Disponível em: <http://periodicos.pucminas.br/index.php/enfermagemrevista/article/view/17228>. Acesso em 23 de julho de 2018.
- FIOCRUZ. Fundação Osvaldo Cruz. Instituto de Tecnologia em **Imunobiológicos (Bio-Manguinhos)**. **Vacinas: as origens, a importância e os novos debates sobre seu uso**. 2016. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/noticias/1263-vacinas-as-origens-a-importancia-e-os-novos-debates-sobre-seu-uso?showall=1>. Acesso em: 22 de jul. de 2019.
- KARPINSKI, A. P. Sinais Flogísticos, Patologia e Fisiologia**, 2010. Disponível em: <https://>

patofisio.wordpress.com/tag/sinais-flogisticos. Acesso em 23 de julho de 2018.

MAGALHÃES, S. et al., **Termorregulação**, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto Serviço de Fisiologia, 2002. Disponível em: <http://www.webquest.uff.br/downloads/Termorreg.pdf>. Acesso em: 23 de junho de 2018.

SALLES M.C.V. et al., **Eventos Adversos Pós-Vacinação: Revisão Integrativa**, Revista de Enfermagem, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufpe.br/revistas/revistaenfermagem/article/download/231188/25173>. Acesso em: 22 de julho de 2018.

SANTOS, M.C, PONTES NETTO, V.P., ANDRADE, M.S. **Prevalência e Fatores Associados à Ocorrência de Eventos Adversos pós-vacinação em Crianças**, Acta Paul Enferm., 2016. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-21002016000600626&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-21002016000600626&script=sci_abstract&tlng=pt). Acesso em: 23 de julho de 2018.

SBP. Sociedade Brasileira de Pediatria. **Aleitamento Materno e Vacinas**, 2017. Disponível em: <http://www.sbp.com.br/especiais/pediatria-para-familias/noticias/nid/aleitamento-materno-e-vacinas/>. Acesso em: 24 de junho de 2018.

## NOVAS TERAPIAS E ALTERNATIVAS PARA O MELANOMA EM ESTÁGIOS AVANÇADOS

**Layene Caetano Ireno**

Centro Universitário Barão de Mauá  
Ribeirão Preto- SP

**Karina Furlani Zoccal**

Centro Universitário Barão de Mauá  
Ribeirão Preto- SP

**Cristiane Tefé-Silva**

Centro Universitário Barão de Mauá  
Ribeirão Preto- SP

**RESUMO:** O melanoma é um tipo de câncer de pele, de extrema relevância, extremamente agressivo e com baixa resposta a terapias nos estágios mais avançados da doença. Enquanto a doença diagnosticada em estágio precoce é efetivamente tratada com remoção cirúrgica, o estágio metastático é quase universalmente fatal, sendo a taxa de resposta clínica ao tratamento quimioterápico inferior a 30% dos casos. Dessa forma, cada vez mais a busca por novos agentes anti-tumorais que atuem na terapêutica do melanoma o é de grande interesse clínico e tem ganhado espaço no campo de pesquisa. Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre novas opções terapêuticas nas ciências a respeito do melanoma em seus estágios mais avançados

**PALAVRAS-CHAVE:** Melanoma, tratamento

antitumoral. Fitoterápicos

**ABSTRACT:** Melanoma is an extremely aggressive type of skin cancer that is extremely aggressive and has low response to therapies in the later stages of the disease. While the disease diagnosed at an early stage is effectively treated with surgical removal, the metastatic stage is almost universally fatal, with a clinical response rate to chemotherapy less than 30% of cases. Thus, the search for new anti-tumor agents that act in the treatment of melanoma is increasingly of great clinical interest and has gained space in the research field. The aim of this study was to review the literature concerning of the evaluate new therapeutic options in the sciences regarding melanoma in its later stages.

**KEYWORDS:** Melanoma, antitumoral treatment, Phytotherapics

### 1 | INTRODUÇÃO

O câncer de pele no Brasil é considerado um dos mais frequentes entre todos os tipos de neoplasias, podendo ser classificado em melanoma e não melanoma. Dentre os ditos não melanoma, os mais frequentes são carcinomas basocelular e o espinocelular, respectivamente (SANTOS, 2017), ao passo que o melanoma cutâneo corresponde a

uma neoplasia maligna com etiologia multifatorial caracterizada pela proliferação anormal dos melanócitos que invadem a membrana basal, sendo o tumor mais agressivo e cuja incidência é crescente, sobretudo entre a população branca devido à sua maior sensibilidade à exposição solar (LEW *et al.*, 1983 FORD *et al.*, 1995; WEINLICH,2003, *apud* JUNG, 2008). É um tumor reconhecido pela alta incidência de mortalidade, devido ao seu elevado índice metastático, alta agressividade e baixa resposta a terapias convencionais, sendo, desse modo, considerado um importante problema de saúde pública. O melanoma cutâneo corresponde a 4% das neoplasias cutâneas, porém é responsável por 80% das mortes dessa categoria de cânceres (MORENO,2015).

A identificação do melanoma está comumente associada ao sistema ABCDE. Esta regra é relevante para detecção clínica do melanoma cutâneo sendo que a letra A caracteriza a assimetria da lesão, a letra B significa presença de bordas irregulares, a letra C sugere mudanças de coloração e a letra D corresponde a um diâmetro do tumor superior a 6 mm e a letra E significa evolução do tumor, sendo o conjunto desses fatores importante para determinar o prognóstico (BONO *et al.*, 1999). Quanto mais precoces são as lesões, maior a chance de cura, porém o risco de morte cresce proporcionalmente ao aumento de espessura do tumor (BALCH *et al.*, 2009; CHABNER; LONGO, 2015). Em média, pacientes que estão em estágio avançado da doença, sobrevivem de 6 a 10 meses (NAZARIAN *et al.*, 2010).

Enquanto a doença diagnosticada em estágios iniciais é efetivamente tratada com remoção cirúrgica, o estágio metastático é quase universalmente fatal, sendo a taxa de resposta clínica ao tratamento quimioterápico inferior a 30% dos casos (FORD *et al.*, 1995). O tratamento de escolha é feito a partir do estágio da doença, sendo os mais convencionais a quimioterapia, radioterapia, cirurgia (primeira indicação nos casos mais precoces) e, mais recentemente, a imunoterapia (SANTOS, 2017). Consequentemente, cada vez mais a busca por novos agentes anti-melanoma é de grande interesse clínico. Considerando que o acervo terapêutico disponível para o tratamento da doença avançada traz resultados insatisfatórios, uma vez que o melanoma metastático não responde rapidamente às terapias padrão citadas, estudos estão sendo desenvolvidos buscando alternativas eficazes para tratamento.

## 2 | OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre novas opções terapêuticas nas ciências a respeito do melanoma em seus estágios mais avançados.

### 3 | MÉTODOS

Este trabalho é uma revisão bibliográfica a respeito de novos tratamentos para o câncer de pele do tipo melanoma. Para tal, foi feita busca ativa de artigos relacionados ao tema na base de dados Scielo e PubMed, sendo as seguintes palavras-chave empregadas: novas perspectivas; melanoma; genética; tratamento; plantas medicinais.

### 4 | DISCUSSÃO

O desenvolvimento do melanoma ocorre inicialmente por meio do crescimento radial, no qual ainda não há o processo de angiogênese, seguido do crescimento vertical, quando o potencial metastático passa a ser preocupante. Ademais, o envolvimento de mutações que ativam proto-oncogenes e que inibem genes supressores tumorais faz parte deste contexto (SANTOS, 2017).

Vale ressaltar que a resposta imune recrutada devido às células tumorais em desenvolvimento consiste na participação de células efectoras pela ação direta, como linfócitos T CD8, por exemplo, e “natural killers” por meio da liberação de substâncias intracitoplasmáticas (perforina e granzima) indutoras de apoptose, e, indiretamente, por linfócitos T CD4 e diversas células do sistema imune inato (neutrófilos, macrófagos, mastócitos) sintetizadoras de citocinas que atuam modulando respostas contra câncer (CHENG *et al.*, 2013; NOUROZ *et al.*, 2016).

As estratégias mais atuais, neste contexto, são voltadas para a ruptura da tolerância imune. Os inibidores dos pontos de checagem modulam vias que desativam as atividades das células T (diminuindo a supressão imune tumoral) ou estimulando a atividade das células T, potencializando respostas antitumorais.

A vantagem da utilização de imunobiológicos está no provável controle eficaz do tumor e possível aumento da sobrevida dos pacientes (EGGERMONT e ROBERT, 2014). O antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico (CTLA-4) é uma molécula que controla as vias de ativação das células T. Sabe-se que o fármaco Ipilimumab, um anticorpo monoclonal totalmente humano (IgG1), bloqueia CTLA-4 para promover a imunidade antitumoral ao impedir a interação entre as células apresentadoras de antígeno e as células T, testado em diversos estudos de fase 3, demonstrou benefício de sobrevida (alcançando até 5 anos) entretanto efeitos adversos considerados graves ocorreram (HODI *et al.*, 2010; MCDERMOTT *et al.*, 2014).

Um estudo comparativo de fase I randomizou 173 pacientes com melanoma inoperável ou metastático, que fizeram um tratamento com Ipilimumab, um outro imunobiológico, recebendo tratamento com 2mg/kg ou 10mg/kg por via endovenosa, uma vez a cada 3 semanas. Nesses pacientes, a taxa de resposta global foi de 26% em ambas as doses de administração terapêutica, demonstrando assim a atividade antitumoral. Porém, efeitos adversos como erupção cutânea, fadiga e prurido foram

observados, sem, por outro lado, mortalidade associada à droga (ROBERT *et al.*, 2014). Um outro medicamento, ainda, lambrolizumab, foi testado através de um estudo com pessoas com melanoma em estágios avançados, incluindo aqueles que tiveram evolução desfavorável enquanto recebiam Ipilimumab, ocasionando uma alta taxa de regressão do melanoma sem efeitos tóxicos graves (HAMID *et al.*, 2013).

No que concerne às terapias alternativas, um recente estudo experimental desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa a partir de modelo murino de melanoma B16F10 (injeção subcutânea de células tumorais), testou o extrato hidroalcoólico da planta *Arctium lappa* através da injeção intraperitoneal em diferentes concentrações. O estudo concluiu que o extrato promoveu importante efeito anti-inflamatório ao demonstrar uma supressão do acúmulo de leucócitos na cavidade peritoneal dos camundongos e de neutrófilos tanto na circulação quanto na cavidade peritoneal, além de reduzir o edema e a formação de inúmeros mediadores pró-inflamatórios como Óxido nítrico (NO), IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ . Considerando que a inflamação é parte do mecanismo de formação e progressão do câncer, a utilização da *Arctium lappa* pode vir a fazer parte de novas estratégias futuras (NASCIMENTO *et al.*, 2019).

Além da espécie *Arctium lappa*, o gênero *Lobelia*, planta herbácea de grande importância na medicina oriental, foi descrito como um agente antitumoral em alguns tumores. Um estudo isolou polifenóis e outras moléculas orgânicas da *Lobelia chinensis*, em um ensaio bioquímico demonstrou a inibição da proliferação de células MCF-7 de câncer de mama (ZHANG *et al.*, 2017). A mesma espécie é tradicionalmente empregada na medicina chinesa para tratar picadas de cobra e abscessos na pele, sendo recentemente apontada como uma planta medicinal cujo extrato hídrico é rico em vários tipos de alcaloides, substâncias capazes de atuar como efeito antitumoral no câncer de cólon, pulmão e fígado, porém ainda existem poucos dados na literatura aplicáveis a outros tipos de cânceres e do controle terapêutico em humanos (LING *et al.*, 2016).

Um outro ensaio experimental, desenvolvido pelos autores desta revisão bibliográfica, testou o extrato de uma outra espécie herbácea *Lobelia inflata* com a finalidade de avaliar um possível efeito antitumoral a partir de conclusões obtidas por análise do perfil histopatológico. Trata-se também do modelo de injeção subcutânea de células da linhagem B16F10, capaz de reproduzir melanomas com alto potencial metastático, aplicado em camundongos. Um grupo de animais recebeu tratamento via oral com *Lobelia inflata*. Os mesmos grupos foram comparados quanto aos aspectos macroscópicos, incluindo o crescimento e tamanho dos tumores e presença de ulcerações; número de vasos sanguíneos e células inflamatórias (macrófagos e neutrófilos).

Dentre os resultados obtidos, é provável que o extrato tenha retardado o crescimento do tumor cutâneo, bem como reduzido o processo de angiogênese e parte da inflamação crônica representada por macrófagos o que, indubitavelmente, podem significar bons preditores para a escolha de uma terapia futura eficaz que

envolva o extrato da planta *Lobelia inflata*, sendo, por outro lado, necessários mais estudos a respeito desta terapêutica (Ireno, 2019, *no prelo*).

A *Lobelia inflata*, também é constituída por polifenóis, possuindo duas subfamílias dotadas dessa substância, apresentando atividade antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatória e anticarcinogênica e, este seria provavelmente um dos principais mecanismos envolvidos no combate às células cancerígenas.

Abaixo, imagens dos resultados positivos obtidos na pesquisa da espécie *Lobelia inflata*, ilustrando a redução do número de vasos sanguíneos nos animais tratados com a *Lobelia inflata*.

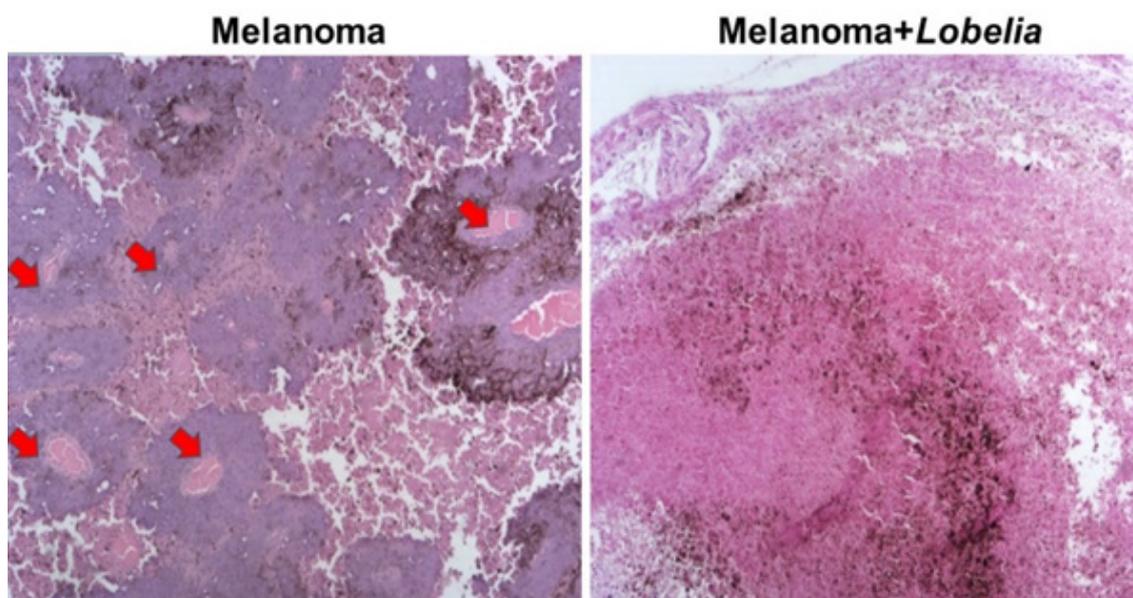


Figura 1. Imagens representativas do corte histológico de melanoma em modelo experimental B16F10 em camundongos e tratados com extrato *Lobelia inflata* (HE coloração, aumento de 40x). Setas indicam presença de vasos sanguíneos no melanoma.

## 5 | CONCLUSÕES

A principal lacuna existente no tratamento do melanoma decorre da ineficiência do tratamento convencional, radioterapia, quimioterapia e remoção cirúrgica, em estágios mais avançados do tumor, que envolva baixa toxicidade. Assim, um dos maiores desafios para pesquisa em melanoma é a identificação de alvos para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Novas terapias demonstram eficácia no campo da imunologia relacionadas à modulação da resposta incitada no desenvolvimento e evolução do melanoma, como alvo do tratamento, sendo este voltado, sobretudo, para a supressão de citocinas pró-inflamatórias bem como diminuição do recrutamento de leucócitos. Compostos fitoterápicos têm demonstrado atividade antitumoral significativa e são candidatos promissores à terapia. Entretanto, ainda existe uma escassez de conhecimentos sobre o papel de herbáceas em humanos e em modelo animal, quanto a um provável efeito

anticâncer, especificamente contra o melanoma metastático, fazendo-se necessário maior aprofundamento dessa temática. Sobretudo, achados iniciais relacionados à regulação celular imune, tendo como alvo o efeito anti-inflamatório já elucidado como parte da fisiopatologia do câncer é, sem dúvidas, uma conquista no âmbito da pesquisa.

As pesquisas envolvendo novas propostas terapêuticas, portanto, ainda são, em potencial, um caminho promissor a ser fomentado na comunidade científica.

## REFERÊNCIAS

BALCH, C.M, *et al.*, Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. **J Clin Oncol.** Dec 20;27(36):6199-206, nov 2009.

BONO, A. *et al.* The ABCD system of melanoma detection: a spectrophotometric analysis of the Asymmetry, Border, Color and Dimension. **Cancer.** Jan 1;85(1):72- C, jan 1999.

CHABNER, B.A.; LONGO, D.L. **Manual de oncologia de Harrison.** 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 2015.

CHENG, Min *et al.* NK cell-based immunotherapy for malignant diseases. **Cellular & molecular immunology**, v. 10, n. 3, p. 230-252, 2013.

EL-KENAWI, Asmaa e. Angiogenesis inhibitors incancer therapy: mechanisticperspective on classificationand treatment rationales. **British Journal Of Pharmacology.** Augusta, p. 712-729. jul. 2013.

EGGERMONT, A. M., ROBERT, C. Melanoma: smart therapeutic strategies in immunooncology. **Nature reviews Clinical oncology**, n 2., 11-181, 2014.

FORD, D.*et al.* Risk of cutaneous melanoma associated with a family history of the disease. The International Melanoma Analysis Group (IMAGE). **Int J Cancer.** 1995 Aug 9;62(4):377-81.

HAMID, Omid *et al.* Safety and Tumor Responses with Lmbrolizumab (Anti-PD-1) in Melanoma. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 369, n. 2, p.134-144, 11 jul. 2013. Massachusetts Medical Society.

HERLYN, Meenhard. *et al.* Function and regulation of melanoma–stromal fibroblast interactions: when seeds meet soil.**Nature**,Philadelphia, v.22, p.3162–3171,2003.

HODI, F., S. *et al.* **Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma.** N Engl J Med 363: 711-723, 2010.

IRENO, L. C.; DA SILVA, C. T. **Avaliação do extrato da planta *Lobelia inflata* no perfil histopatológico frente ao Melanoma B16-F10 em modelo experimental.** ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2594-3723., 2018, Ribeirão Preto. Anais. Ribeirão Preto: ISSN, 2019. p. 1 - 8. No prelo.

JUNG, J.E. **Avaliação imunohistoquímica dos marcadores de progressão tumoral E-caderina,  $\beta$ -catenina, CEACAM-1 e PTEN em melanoma cutâneo.** 2008.140f. Tese (Apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica) - Setor de ciências da saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LEW, R. A. *et al.* Sun exposure habits in patients with cutaneous melanoma: a case control study. **The**

**Journal of dermatologic surgery and oncology**. V.9, p. 981-986, dez. 1983.

LING, Binbing *et al.* Evaluating the cytotoxic effects of the water extracts of four anticancer herbs against human malignant melanoma cells. **Drug Design, Development And Therapy**, [s.l.], v. 10, p.3563-3572, nov. 2016.

MCDERMOTT, D. *et al.* Durable benefit and the potential for longterm survival with immunotherapy in advanced melanoma. **Cancer treatment reviews**, 40., 1056-64., 2014.

MORENO, Marcelo. Diferenças Clínico-Epidemiológicas entre Pacientes Masculinos e Femininos com Diagnóstico de Melanoma Cutâneo no Oeste de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Chapecó, v. 1, n. 61, p.15-21, mar. 2015.

NASCIMENTO, B. A. C. *et al.* Arctium lappa Extract Suppresses Inflammation and Inhibits Melanoma Progression. **Medicines**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.81-91, 29 jul. 2019.

NAZARIAN, RAMIN *et al.* Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK or NRAS upregulation. **Nature**. Los Angeles, v. 468, n. 977, p.973-977, dez. 2010.

NOUROZ, Faisal *et al.* Natural killer cells enhance the immune surveillance of cancer. **Egyptian Journal of Medical Human Genetics**, v. 17, n. 2, p. 149-154, 2016.

REDDY, Narsimha *et al.* Antioxidant, Anti-inflammatory and Anticancer Activities of Ethanol Soluble Organics from Water Extracts of Selected Medicinal Herbs and Their Relation with Flavonoid and Phenolic Contents. **Pharmacologia**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.59-72, 1 fev. 2017. Insight Knowledge.

ROBERT, C.; Ribas, A.; Wolchok, J. D. **Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial**. *Lancet*. n 384,1109-17, 2014.

SANTOS, Marcella Esteves Vita. **NOVAS TERAPIAS PARA O CÂNCER DE PELE DO TIPO MELANOMA**. 2017. 67 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Laureate International Universities, Rio de Janeiro, 2017.

WAINSTEIN, Alberto J. A.; BELFORT, Francisco A.. Conduta para o melanoma cutâneo. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, [s.l.], v. 31, n. 3, p.204-214, jun. 2004. FapUNIFESP (SciELO).

ZHANG, L. *et al.* Antioxidant, Anti-inflammatory and Anticancer Activities of Ethanol Soluble Organics from Water Extracts of Selected Medicinal Herbs and Their Relation with Flavonoid and Phenolic Contents. **Pharmacologia**, Parramatta, v. 8, n. 2, p.59-72, out. 2017.

## OS BENEFÍCIOS DO USO DAS FOLHAS DE *M. EMARGINATA* (ACEROLEIRA) PARA A SAÚDE ORGÂNICA

### **Cristiane Moutinho Lagos de Melo**

Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Bárbara Rafaela da Silva Barros**

Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Dayane Kelly Dias do Nascimento**

Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Ricardo Sérgio da Silva**

Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Lethícia Maria de Souza Aguiar**

Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Georon Ferreira de Sousa**

Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Iranildo José da Cruz Filho**

Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

**RESUMO:** A acerola é uma fruta de reconhecido valor nutricional devido aos seus altos teores de

compostos fenólicos e vitamina C. A associação desses componentes transforma a acerola num fruto antioxidante, redutor de gorduras totais e propício para o desenvolvimento de formulações de uso que vão desde sucos, sorvetes e chás, à produtos relacionados à cosmetologia. Entretanto, pouco se sabe sobre os componentes presentes nas folhas da planta, uma vez que é o órgão mais abundante no vegetal. Nesse sentido, este estudo visa investigar os componentes nutricionais que as folhas da *M. emarginata* (aceroleira) possui e suas aplicabilidades biológicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Acerola, *M. emarginata*, Antioxidante.

### THE BENEFITS OF USING *M. EMARGINATA* (ACEROLEIRA) LEAVES FOR ORGANIC HEALTH

**ABSTRACT:** Acerola is a fruit with recognized nutritional value due to its high contents of phenolic compounds and C vitamin. The association of these compounds turns the acerola into an antioxidant fruit, reducing total fat and suitable to development of formulations related to juices, ice cream, teas and cosmetology-related products. However, few is known about the components present in the leaves of the plant, since it is the most abundant

organ in vegetal. Thus, this study aims to investigate the nutritional components that the leaves of *M. emarginata* (aceroleira) have and their biological applicability.

**KEYWORDS:** Acerola, *M. emarginata*, Antioxidant.

## INTRODUÇÃO

O uso de plantas com fins medicinais por diversas comunidades ao redor do mundo vem estimulando a produção de estudos científicos sobre a eficácia dessas plantas, quais metabólitos são seus principais constituintes e quais são seus reais mecanismos de ação. Além disso, devido ao seu uso indiscriminado, muitos estudos que visam contribuir para a comprovação das atividades biológicas das plantas medicinais, priorizam ensaios que garantam se, de fato, é segura a sua administração nas pessoas (Ekor, 2014).

A primeira forma de abordagem na organização de um estudo com plantas medicinais é a investigação etnofarmacológica em que, com o auxílio de diversos agentes da comunidade, coletam-se relatos do uso dessas plantas que a princípio são passados entre as gerações (conhecimento tradicional). Em segundo plano, busca-se classificar quais órgãos da planta são utilizados, o método de extração (se sob a forma de chás, decocção, tinturas, macerado, entre outros) e a via de administração (oral, inalatória, sobre a pele, como loções capilares, águas de banho, etc.). A terceira e última etapa consiste em analisar dentro de laboratório de pesquisa, com protocolos bem estabelecidos e equipamentos de precisão analítica, se aquele uso da planta (associando-se órgão alvo, método de extração e via de administração) é seguro e/ou se apresenta reais ações biológicas relatadas segundo o uso etnofarmacológico.

A investigação científica das ações biológicas de uma planta conhecida como medicinal se inicia através da identificação de seus constituintes fitoquímicos e da correlação desses metabólitos com alguns possíveis mecanismos de ação, sejam eles profiláticos ou terapêuticos (Lin et al., 2018). Atualmente essas evidências vêm sendo demonstradas por diversos autores em todo o mundo (Tabela 1), os quais têm publicado estudos de eficácia contra algumas doenças como câncer (Shirzad et al., 2011), aterosclerose (Asgari et al., 2012) e diabetes (Asgary et al., 2011). Além disso, compostos naturais extraídos de plantas têm se apresentado como alternativas terapêuticas para lesões pulmonares (Favarin et al., 2013) e apresentaram perfis anti-inflamatório (Lee et al., 2014), hepatoprotetor (Liu et al., 2014) e anti-hipertensivo (Sultana & Muhammad 2017).

Composto	Planta de Origem	Nome Popular	Atividades Biológicas	Referências
Aspirina	<i>Salix alba</i> L.	Salgueiro-branco	Analgésico / Antitumoral	Mahdi <i>et al.</i> 2006
Morfina	<i>P. somniferum</i> L.	Papoula	Analgésico	Rosenblun <i>et al.</i> 2008
Quinina	Cinchona	Cinchona	Antimalárico	Renslo, 2013
Etoposídio	<i>P. peltatum</i> L.	Mandrágora	Antitumoral	Montecucco <i>et al.</i> 2015
Metformina	<i>Galega officinalis</i>	Arruda-caprária	Controle de Glicemia	Bailey, 2017
Levodopa	<i>Mucuna pruriens</i>	Feijão-da-florida	Tratamento de Parkinson	Min <i>et al.</i> 2015
Vinblastina	<i>C. roseus</i>	Vinca / Boa-noite	Antitumoral	Noble <i>et al.</i> 1958

Tabela 1: Compostos e/ou derivados de plantas com suas respectivas propriedades farmacológicas

O Brasil é conhecido como um dos países com maior biodiversidade vegetal, possuindo seis principais biomas de destaque, como a Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pantanal e Pampa, totalizando 8,5 milhões de Km<sup>2</sup> (Pilatti *et al.* 2011). A floresta amazônica se destaca por ser o maior bioma do país, considerada um santuário natural, localizada no norte da América do Sul, com um território de 4,196.943 milhões de Km<sup>2</sup> (IBGE, 2004) e abrigando mais de 2.500 espécies de árvores e 30.000 plantas de classificações diversas (Ministério do Meio Ambiente, Brasil 2018). Além disso, a Mata Atlântica, que embora esteja em constante pressão antrópica, exibe grande riqueza e diversidade, apresentando atualmente, cerca de 20 mil espécies vegetais (Ministério do Meio Ambiente, Brasil 2018).

De acordo com Rodrigues e Carvalho (2011), essas regiões abrigam grandes grupos de comunidades indígenas, quilombolas, ribeirinhos, pescadores, pequenos produtores rurais e extrativistas, que possuem e fazem uso de um vasto conhecimento sobre a utilização de plantas na medicina popular. E esse conhecimento tem sido passado de gerado a geração, fazendo parte da cultura e costumes dessas comunidades.

*Malpighia emarginata* DC é um clássico exemplo de planta usada para fins terapêuticos. Conhecida popularmente como aceroleira, esta planta originária da região do Caribe, pertence à família Malpighiaceae e está presente entre a América Central e do Sul (Oliveira *et al.*, 2012). No Brasil, a planta possui um apelo comercial de grande valor uma vez que de seu fruto, chamado de acerola, podem ser feitos doces, sucos, sorvetes e diversas outras formulações nutricionais devido ao seu alto teor de vitamina C, ácidos fenólicos, flavonoides, polifenóis, carotenoides, antocianinas, diversas vitaminas e sais minerais (Tabela 2) (Rosso *et al.*, 2008; Alvarez-Suarez *et al.*, 2017; Malegori *et al.*, 2017).

	Componente	Fruto	Referência
Macronutrientes	Carboidratos (g/100 g)	8	
	Proteínas (g/100 g)	0,9	NEPA, 2011
	Lipídios (g/100 g)	0,2	
	Fibras Alimentares (g/100 g)	1,5	
Vitaminas			
Vitaminas	A ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	247	
	B1 (mg/100 g)	0,02	NEPA, 2011
	B2 (mg/100 g)	0,04	IBGE, 2011
	B3 (mg/100 g)	1,38	Leffa <i>et al.</i> , 2014
	C (mg/100 g)	3548,70 $\pm$ 22,75	Malegori <i>et al.</i> , 2017
Sais Minerais	E (mg/100 g)	0,13	
	Na (mg/100 g)	7	
	K (mg/100 g)	165	
	Ca (mg/100 g)	13	IBGE, 2011
	Fe (mg/100 g)	0,2	NEPA, 2011
	P (mg/100 g)	9	
Conteúdo Energético (Kcal/100 g)	Mg (mg/100 g)	13	
	—	33	NEPA, 2011
Metabólitos Secundários	Carotenoides ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	2970	
	Rutina (mg/100 g)	107,67 $\pm$ 0,93	Alvarez-Suarez <i>et al.</i> , 2017
	Quercetina (mg/100 g)	71,33 $\pm$ 0,96	
	Tanino (mg/100 mg)	0,64 $\pm$ 0,17	Rodrigues-Amaya, 2008
	Ácido Elágico (mg/100 g)	2,36 $\pm$ 0,00	
	Antocianinas (mg/100 g)	14,04 $\pm$ 0,38	Leffa <i>et al.</i> , 2014
	Flavonoides Totais (mg/100 g)	0,086 $\pm$ 0,01	Moraes, 2018
	Fenóis Totais (mg/100 mg)	19,90 $\pm$ 0,10	

Tabela 2: Perfil nutricional presente nos frutos de *M. emarginata* DC (acerola).

Esta planta é uma arbustiva que pode alcançar entre 3 a 4 metros de altura. Seu tronco se ramifica desde a base, apresentando uma copa densa com muitas folhas de coloração verde-escura brilhante (Fig. 1A) (Souza & Lorenzi 2008). As suas flores são do tipo inflorescência corimbo, de flores com simetria zigomorfa, despontando a partir da axila foliar, entre duas e 6 flores. A diferenciação do botão floral ocorre entre 7 e 10 dias, e sua antese é diurna e ocorre entre 15 e 17 dias (Fig. 1B). Além disso, a flor é bissexuada e o sistema de reprodução é realizado principalmente por abelhas (Medeiros de Siqueira *et al.* 2011). Os frutos da acerola são do tipo drupa, com a casca fina e lisa, e polpa carnosa, suculenta e aromática (Fig. 1C). Seu amadurecimento ocorre entre 21 e 25 dias após a antese e chegam a pesar entre 2 e 10 g, variando em virtude do potencial genético da planta e as condições de cultivo e clima. A coloração dos frutos inicia-se na cor verde, passando para o amarelo-alaranjado e em alguns tipos de aceroleira, chegam a ficar vermelho escuros, quando bem maduros. A estrutura interna dos frutos consiste em 3 sementes, onde cada uma é envolvida num endocarpo reticulado e trilobado (Souza e Lorenzi 2008).

Entre as frutas produzidas no Brasil, a acerola vem se destacando como uma

das mais comercializadas e produzidas, contando com plantios em vários estados brasileiros, em especial no Nordeste do país, com 60% da produção nacional de acerola, alcançando cerca de 10.000 hectares de produção do fruto (Furlaneto e Nasser 2015).

Segundo pesquisas, o suco da acerola possui em média de 50 a 100 vezes mais vitamina C do que o suco do limão e da laranja, respectivamente (Martins et al., 2013). Como já se sabe, o ácido ascórbico é uma vitamina cuja principal propriedade está relacionada diretamente com o sequestro de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que as torna inativas, evitando danos irreversíveis às células (Pohanka et al. 2012). Além disso, estudos demonstraram que a vitamina C possui propriedade antiviral contra o vírus influenza, além de ser comumente usada no tratamento de sintomas provocados por doenças respiratórias (Alvarez-Suarez et al., 2017), como anti-inflamatório, radioprotetor, quimioprotetor, vasoprotetor e inibidor da oxidação de LDL (Seeram e Nair, 2002; Rosso et al., 2008).



Figura 2: *Malpighia emarginata* DC. **A** – Vista integral da formação arbustiva, **B** - Flores e **C** - Fruto. Fontes: os autores e <http://denisegomesludwig.blogspot.com.br>

As comunidades fazem uso da acerola contra afecções respiratórias como bronquite, catarro e sinusite. O fruto para estes fins é consumido em manipulações como chás com alho e mel. Populares também usam como terapia para doenças cardiovasculares e associadas ao colesterol (Bolson et al., 2015). Evidências científicas têm demonstrado que a ingestão do fruto não é tóxica (Nunes et al., 2011; Nunes et al., 2013), parece induzir melhora nos sintomas da influenza (Silva et al., 2015) e que pode ser considerado um alimento funcional (Alvarez-Suarez et al., 2017). Embora o conhecimento sobre os aspectos nutricionais e terapêuticos do fruto estejam em processo de consolidação na literatura científica, pouco se sabe sobre as folhas de *M. emarginata*. As folhas, que são os órgãos mais abundantes da planta, parecem não ter recebido atenção científica quanto aos seus componentes fitoquímicos e possíveis propriedades biológicas. Investigação recente, em que utilizou-se farelo de folhas de acerola em programa de restrição alimentar para suínos pesados, foram observadas reduções de 23,65% na espessura média de

toucinho e de 39,84% na área de gordura total. Além disso, os autores afirmam que as características qualitativas da carne não foram afetadas pela inserção do farelo de acerola (cerca de 30% da ração) à dieta dos animais e houve um aumento de 10,44% na porcentagem de carne magra das carcaças (Castelini et al., 2015).

Com intuito de investigar evidências científicas de possíveis propriedades biológicas presentes nas folhas de *M. emarginata* DC foram realizados experimentos de avaliação de biomassa e fitoquímica das folhas da planta e, ainda, utilizando um extrato aquoso obtido a partir das folhas investigou-se seu perfil citotóxico, antioxidante, antimicrobiano e imunoestimulante.

## RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Os resultados da análise físico-química da biomassa das folhas, pelos métodos de extração química dos metabólitos primários e secundários, demonstraram uma alta umidade retida pela planta (65% do peso fresco), com presença significativa de lignina total (25%) e de pectina (21%), bem como a presença de íons e açúcares (Tabela 3).

Componente (%)	M ± DP
Lignina total	25,77 ± 4,86
Lignina solúvel	8,45 ± 0,03
Lignina insolúvel	17,32 ± 9,69
Celulose	26,18 ± 0,16
Hemicelulose	18,84 ± 0,18
Pectinas	21,37 ± 3,63
Glicose	0,4
HMF	0,006
Xilose	0,3
Furfural	0,002
Ácido Galacturônico	0,15
Extrativos	10,43 ± 0,01
Umidade	65,18 ± 0,34
Cinzas Totais	3,98 ± 0,03
Sais minerais:	(mg/100g)
K	0,14 ± 0,04
	(µg/100g)
Zn	2,54 ± 0,13
Mn	10,33 ± 3,96
Fe	103,10 ± 14,54
Cu	3,92 ± 2,69

Tabela 3: Determinação dos componentes estruturais encontrados nas folhas de *M. emarginata*

A determinação da composição química das folhas de *M. emarginata* foi realizada segundo os procedimentos metodológicos propostos por Rocha et al. (2000, 2011, 2012); Sluiter et al. (2005, 2006, 2008) e Gouveia et al. (2009).

Para a produção do extrato aquoso das folhas de *M. emarginata*, cerca de 20 g do material orgânico foi diluído em NaCl 0,15 M (200 mL) na proporção de 10% (p/v). Após agitação (400 rpm/28 °C/16 horas) em agitador magnético (Lab. Companion™ IS-971), o material foi filtrado, centrifugado (10000 g/15 min) e liofilizado. Foi obtido um rendimento de 9,2 g de material bruto (ou 46% de rendimento). A partir desse extrato aquoso foi realizada a investigação fitoquímica de metabólitos secundários (Cromatografia Líquida de Alta Performance - HPLC) e foram feitos os demais testes biológicos.

Os resultados da investigação fitoquímica do extrato aquoso das folhas demonstrou alta prevalência de fenóis totais ( $51,14 \pm 0,21$  mg GAE/g), sendo os flavonoides alguns destes compostos ( $9,67 \pm 0,08$  mg QE/g). Além disso, outros metabólitos secundários como ácido caféico, ácido elágico e rutina também puderam ser identificados por HPLC (Tabela 4).

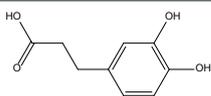
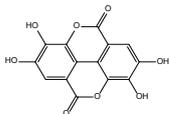
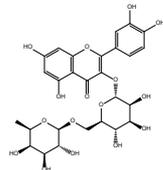
Compostos	Tempo de retenção (min)	Área	Fórmula Molecular	Fórmula Estrutural
Ácido caféico	51.180	79.336.185	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	
Ácido elágico	22.500	177.410.980	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	
Rutina	21.567	47.352.748	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	

Tabela 4: Análise dos metabólitos secundários encontrados no extrato aquoso obtido a partir das folhas de *M. emarginata*.

A investigação sobre o teor de vitaminas que o extrato das folhas poderia apresentar revelou também que foi encontrada a vitamina B3 e altos teores de vitamina C, bem similar ao que já se sabe do fruto (Figura 3). Ainda na investigação de componentes nutricionais presentes na folha da planta, além de íons e vitaminas, foi observado, por medição em espectrofotometria com o reagente de Bradford, que o extrato possui 20,9 mg/mL de proteínas totais em sua composição.

As possíveis atividades antioxidantes do extrato aquoso também foram analisadas por diferentes técnicas, como atividade antioxidante total (usando-se o fosfato de molibdênio – Santos et al., 2018), sequestro de radicais livres pelo DPPH (Blois, 1958), redução de radicais nitrogenados (nitrito - Barapatre et al., 2016), peroxidação lipídica (Jayaprakasha, 2001) e redução de íons férricos (Benzie et al., 1996). Os resultados comprovaram a ação antioxidante do extrato aquoso e, isso

ocorreu provavelmente devido à associação entre altos teores de fenóis totais e vitamina C presentes no extrato (Tabela 5).

A investigação das atividades biológicas com o extrato aquoso objetivou avaliar o perfil antimicrobiano, citotóxico e imunoestimulante que a *M. emarginata* possui frente a bactérias, fungos e células animais *in vitro*. Os resultados antimicrobianos demonstraram que o extrato não foi capaz de inibir o crescimento ou até mesmo causar a morte de bactérias das espécies *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*. Entretanto, quando usado contra as leveduras de diferentes espécies de *Candida* spp. O extrato apresentou alto poder antifúngico em baixas concentrações (Tabela 6).

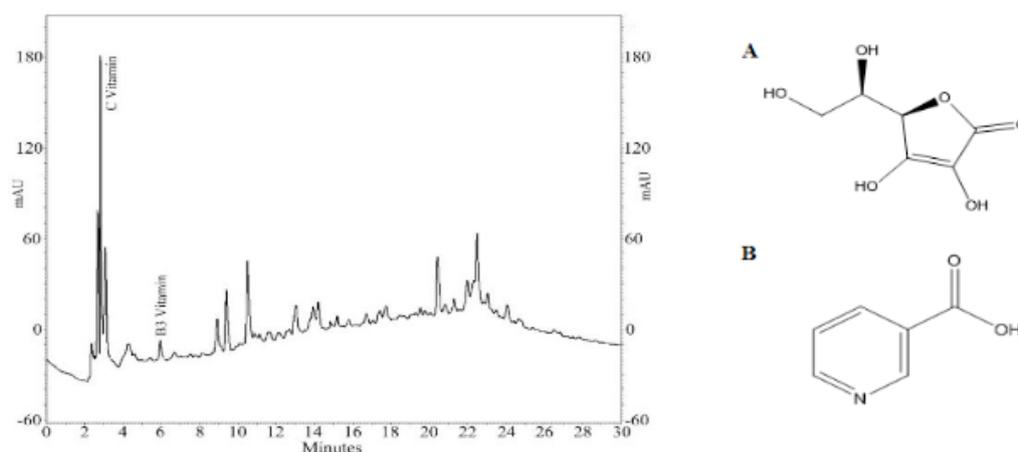


Figura 3: (A) Cromatograma por HPLC do extrato aquoso das folhas de *M. emarginata* demonstrando a presença das vitaminas C e B3 (B).

	<i>M. emarginata</i>	Ácido Ascórbico
Capacidade antioxidante total (mg AAE/g)	20,32 ± 0,89	100
Sequestro de radicais livres pelo DPPH (% mg/mL)	38,59 ± 1,2	90,04 ± 0,16
Óxido nítrico (IC <sub>50</sub> - µg/mL)	100,96 ± 1.2	ND
Peroxidação lipídica (%)	51,01 ± 0.08	71,70 ± 0,01
Redução de Íons Férricos (EFeSO <sub>4</sub> (II)/g)	416,11 ± 0,46	1215,00 ± 48,55

Tabela 5: Resultados das atividades antioxidantes promovidas pelo extrato aquoso de folhas de *M. emarginata*

ND = Não determinado.

Cepas	Fluconazol (µg/mL)	Extrato aquoso de folhas de <i>M. emarginata</i> (µg/mL)		
	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	CFM
<i>C. albicans</i>	0,25	0,51	0,52	ND

C. parapsilosis	ND	0,51	0,51	0,51
C. krusei	32	8,36	8,36	ND
C. tropicalis	4	0,13	0,26	1,05
C. glabrata	64	ND	ND	ND

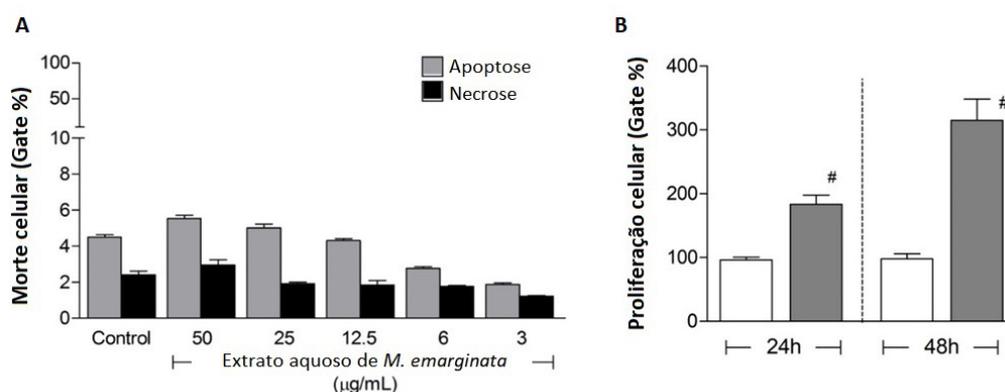
Tabela 6: Atividade antifúngica promovida pelo extrato aquoso de folhas de *Malpighia emarginata* frente a *Candida* spp.

ND = Não detectado. Fluconazol foi usado como controle positivo.

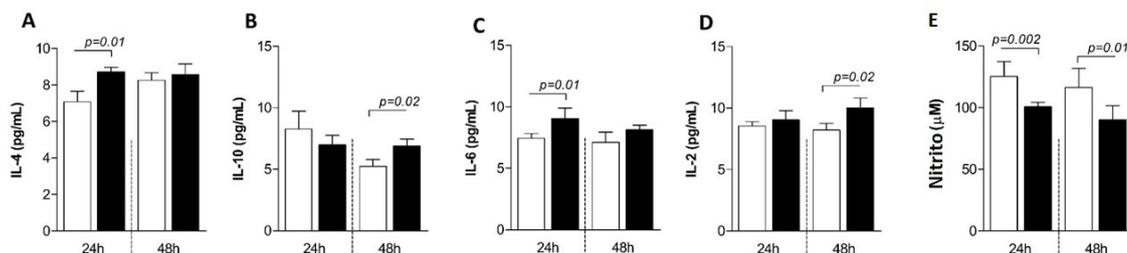
CMI = concentração Inibitória Mínima. CFM = Concentração Fungicida Mínima.

Os testes de citotoxicidade foram realizados em esplenócitos de camundongo segundo metodologia descrita por Melo et al (2010), em que células de baço de camundongos Balb/c são isoladas e cultivadas em placas de cultura de 24 poços com diferentes concentrações do extrato aquoso (50, 25, 12,5, 6,25 e 3,125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) por 24 horas. Os resultados demonstraram que as células não sofreram morte celular significativa, tanto para apoptose quanto para necrose, em nenhuma das concentrações avaliadas, apresentando uma taxa de sobrevivência superior a 90% (Figura 4A).

Após a avaliação da morte celular foram feitas investigações a respeito da possível imunoestimulação promovida pelo extrato em linfócitos e monócitos isolados a partir dos baços dos animais. Para isso utilizou-se a cultura celular tratada com o extrato aquoso na concentração de 12,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  por 24 e 48 horas de incubação. Os resultados demonstraram que o extrato foi capaz de promover a proliferação celular (Figura 4B) e induzir a alta produção de IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10 (Figura 5A-D), indicando o efeito imunoestimulante e um possível perfil anti-inflamatório promovido pelo extrato quando observada também a baixa produção de nitrito (Figura 5E).



**Figura 4:** (A) Viabilidade de esplenócitos de camundongos avaliada pela marcação com Anexina V e Iodeto de Propídio em citometria de fluxo (FacsCalibur - BD®). (B) Índice de proliferação de esplenócitos de camundongos avaliado por coloração com CFSE em citometria de fluxo (FacsCalibur - BD®). (B) Barras brancas verticais representam células de controle negativo (células + meio de cultura) e barras verticais escuras representam o extrato aquoso na concentração de 12,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Este ensaio foi realizado utilizando dois experimentos independentes realizados em triplicata. #  $p = 0,003$ .



**Figura 6:** (A-D) Perfil de produção de citocinas e de nitrito (E) nos sobrenadantes de cultura de esplenócitos de camundongos Balb/c em 24 e 48 horas de incubação tratadas com extrato aquoso de folhas de *M. emarginata* na concentração de 12,5 µg/mL. Barras brancas verticais representam células de controle negativo (células + meio de cultura) e barras verticais pretas representam o extrato aquoso. Este ensaio foi realizado utilizando dois experimentos independentes realizados em triplicata.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de plantas medicinais para o tratamento, cura e prevenção de certas doenças é uma das formas mais antigas de prática medicinal da humanidade e é apoiado por um conhecimento consolidado por séculos de observação em diferentes partes do mundo. No entanto, a cultura popular colabora com o uso indiscriminado de plantas medicinais no contexto da automedicação, exigindo o estudo de seus constituintes, o mecanismo de ação terapêutica e a identificação de princípios ativos responsáveis pelas diversas atividades biológicas relatadas pela população (Ford et al., 2014).

A acerola apresenta uma gama de estudos publicados até o momento, sendo a maioria desses estudos de especulação antioxidante e nutricional (Martins et al., 2013; Rosso et al. 2008; Alvarez-Suarez et al. 2017). Aqui, usamos um extrato aquoso obtido a partir de folhas de *M. emarginata* DC. A proposta foi investigar se um extrato da planta é citotóxico para células e microrganismos, e se esse extrato também é capaz de ser antioxidante e imunomodulador. Um outro viés foi a investigação da presença de moléculas bioativas em sua composição como ligninas, pectinas e lectinas para planejamentos futuros de isolamento dessas moléculas e investigação de suas funções biológicas.

Os resultados sobre os componentes estruturais da planta demonstram uma alta capacidade de retenção de água, presença significativa de ligninas, pectinas, glicose, proteínas e íons diversos como Fe, Mn e Cu. Esses achados são de suma importância para nortear novos estudos utilizando a folha da planta e não apenas o fruto, uma vez que as folhas estão presentes de forma abundante na planta e têm ampla disponibilidade ao longo do ano para possível aplicabilidade farmacológica (Medeiros de Siqueira et al. 2011). Em complementação, a investigação do extrato aquoso demonstrou a presença de importante vitaminas e ácidos fenólicos, os quais atuam em sinergismo para a ação antioxidante e nutricional.

Os resultados antioxidantes do extrato aquoso corroboram com o relatado por Zengin et al. (2018), os quais demonstram o reconhecido poder antioxidante de

compostos fenólicos e são também reforçados por investigações com outras plantas como *Ficus beechevana* (Yen et al. 2018), *Punica granatum* (Russo et al. 2018) e *Saccharum officinarum* (Abbas et al. 2014). Além disso, também é atribuído aos compostos fenólicos o papel antifúngico que foi demonstrado em nossos resultados (Haghdoost et al. 2016, Barral et al. 2017, Wang et al. 2018).

A não citotoxicidade observada pelo extrato aquoso de *M. emarginata* corrobora com os achados de Fraige et al. 2018, que demonstraram o uso seguro de algumas espécies de *Byrsonima* spp. (Malpighiaceae) em células RAW 264-7 nas concentrações de 12.5 and 50 µg/mL e com os resultados de Düsman et al. (2016), que utilizaram os frutos de *Malpighia glabra* Linnaeus em experimentos *in vitro* e *in vivo* com ratos Wistar.

Em 2016, Kilani-Jaziri et al. testaram a capacidade imunoestimulatória do ácido caféico e outros compostos fenólicos em células animais e, similar ao nosso estudo, demonstraram que este metabólito secundário foi capaz de estimular linfócitos T e aumentar a taxa fagocítica de macrófagos. Estes resultados foram corroborados por Búfalo et al. (2015), em estudo com estimulação *in vitro* de monócitos humanos e, ainda, por Park et al. (2004) em ensaios, *in vivo*, com Balb/c onde houve estimulação de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e produção das citocinas IL-2, IL-4 e IFN-γ. Por fim, Ganeshpurkar e Saluja (2017) também demonstraram o perfil imunoestimulante da rutina na imunidade celular e humoral de modelos animais.

A linha de frente de venda do produto “acerola” se concentra especificamente no seu quantitativo de vitamina C. Os ensaios realizados com a *M. emarginata* demonstraram claramente que não só o fruto, mas também a folha possui um quantitativo de componentes nutricionais e estimuladores celulares que poderiam trazer inúmeros benefícios para a saúde animal e humana. O próximo passo poderia ser uma investigação a cerca das propriedades organolépticas das folhas e sua inserção em rações, farinhas, biscoitos, saladas, entre outros. Além disso, tendo em vista a alta concentração de componentes antioxidantes nas folhas, seria interessante o investimento em investigações de potencial cosmético e medicinal.

## REFERÊNCIAS

Abbas SR, Sabir SM, Ahmad SD, Boligon AA, Athayde ML. Phenolic profile, antioxidant potential and DNA damage protecting activity of sugarcane (*Saccharum officinarum*). *Food chemistry*, v. 147, p. 10-16, 2014.

Alvarez-Suarez, J. M.; Giampieri, F.; Gasparri, M.; Mazzoni, L.; Santos-Buelga, C.; González-Paramás, A. M.; Battino, M. The Protective Effect of Acerola (*Malpighia emarginata*) Against Oxidative Damage in Human Dermal Fibroblasts Through the Improvement of Antioxidant Enzyme Activity and Mitochondrial Functionality. *Food & function*, v. 8, n. 9, p. 3250-3258, 2017.

Asgari S, Setorki M, Rafieian-Kopaei M, Heidermico E, Shahinfard N, Ansari E, Forouzandeh Z. Postprandial hypolipidemic and hypoglycemic effects of *Allium hertifolium* and *Sesamum indicum* on hypercholesterolemic rabbits. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, v. 6, p. 1131-1135, 2012.

Bailey J. C. Metformin: Historical Overview. *Diabetologia*, v. 60, n. 9, p. 1566-1576, 2017.

Barapatre, A.; Meena, A.; Mekala, S.; Das, A.; Jha, H. In vitro evaluation of antioxidant and cytotoxic activities of lignin fractions extracted from *Acacia nilotica* Int. J. Biol. Macromol., 86 (2016), pp. 443–453, 2016.

Barral B, Chillet M, Minier J, Lechaudel M, Schorr-Galindo S. Evaluating the response to *Fusarium ananatum* inoculation and antifungal activity of phenolic acids in pineapple. *Fungal Biology.*, v. 121, p. 1045-1053, 2017.

Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

Blois, M.S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2004). Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 25 de maio de 2018.

BRASIL. Ministério Do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/amazônia>>. Acesso em: 25 de maio de 2018.

Bolson, M.; Hefler, S.R.; Dall, E.I.; Chaves, O.; Junior, A.G.; Junior, E.L.C. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 161 (2015), pp. 1-10, 2015.

Búfalo, M.C.; Sforcin, J.M. The modulatory effects of caffeic acid on human monocytes and its involvement in propolis action. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 67 (5) (2015), pp. 740-745, 2015.

Carpentieri-Pípolo, V., Neves, C. S. V. J., Bruel, D. C., de Souza, S. G. H., & Garbúglio, D. D. Frutificação e desenvolvimento de frutos de aceroleira no norte do Paraná. *Ciência Rural*, v. 38, n. 7, p. 1871-1876, 2008.

Castelini, F R, Thomaz, M C, Ruiz, U. S. (Tese) Farelo de acerola em programa de restrição alimentar para suínos pesados. (2015) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, Brasil.

Düsman E, Almeida IV, Tonin LTD, Vicentini VEP. In vivo antimutagenic effects of the Barbados cherry fruit (*Malpighia glabra* Linnaeus) in a chromosomal aberration assay. *Genetics and Molecular Research.*, v. 15, n. 4, 2016.

Ekor, M. The Growing use of Herbal Medicines: issues relating to Adverse reactions and Challenges In monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology*, v. 4, p. 177, 2014.

Favarin, C. D.; Oliveira, R. J.; Oliveira, J. F. C.; De Paula, R. A. Potential effects of medicinal plants and secondary metabolites on acute lung injury. *Biomed Research International*, 2013.

Fraige K. et al. Dereplication by HPIC-DADeSI-MS/MS and Screening for Biological Activities of *Byrsonima* Species (Malpighiaceae). *Phytochem Anal* 29: 196-204, 2018.

Ford JB, Sutter ME, Owen K, Albertson TE. Volatile Substance Misuse: An Updated Review of Toxicity and Treatment. *Clin. Reviews in Allergy & Immunology*, v. 46, p. 19-33, 2014.

Furlaneto, F. P. B.; Nasser, M. D. Panorama Da Cultura Da Acerola No Estado De São Paulo. *Pesquisa & tecnologia*, v. 12, n. 1, 2015.

- Ganeshpurkar and Saluja, A.K. Protective effect of rutin on humoral and cell mediated immunity in rat model. *Chemico-biological interactions*, 273 (2017), pp. 154-159, 2017.
- Gouveia, E. R.; Nascimento, R. T.; Souto-Maior, A. M.; Rocha, G. J. M. Validação de Metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Química Nova*, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.
- Haghdoust NS, Salehi TZ, Khosravi A, Sharifzadeh A. Antifungal activity and influence of propolis against germ tube formation as a critical virulence attribute by clinical isolates of *Candida albicans*. *Journal de Mycologie Médicale*, v. 26, n. 4, p. 298-305, 2016.
- Jayaprakasha, G.K; Singh, R.P; R.P; Sakariah. K.K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, Chicago, Washington v.49, n.11, p.5489-5493, 2001.
- Leffa, D. D., da Silva, J., Daumann, F., Dajori, A. L. F., Longaretti, L. M., Damiani, A. P., Lira, F., Campos, F., Ferraz, A. B. F., Côrrea, D. S., de Andrade, V. M. Corrective effects of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Juice intake on biochemical and genotoxic parameters in mice fed on a high-fat diet. *Mutation Research/Fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*, 770, 144-152, 2014.
- Lee, D. S.; Keo, S.; Ko, W.; Kim, K. S.; Ivanova, E.; Yim, J. H.; Oh, H. Secondary Metabolites Isolated from *Castilleja rubra* Exert Anti-Inflammatory Effects Through NF-Kb Inactivation On Lipopolysaccharide-Induced RAW2647 Macrophages. *Archives of Pharmacal Research*, v. 37, n. 7, p. 947-954, 2014.
- Lin L, Liu YC, Huang JL, Liu XB, Qing ZX, Zeng JG, Liu ZY. Medicinal plants of the genus *Macleaya* (*Macleaya cordata*, *Macleaya microcarpa*): A review of their phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Phytother Res.*, v. 32, n. 1, p. 19-48, 2018.
- Liu, J. Q., Deng, Y. Y., Li, T. Z., Han, Q., Li, Y., & Qiu, M. H. Three New Tetranorditerpenes from Aerial Parts of Acerola Cherry (*Malpighia emarginata*). *Molecules*, v. 19, n. 2, p. 2629-2636, 2014.
- Mahdi J. G.; Mahdi A. J.; Mahdi A. J.; Bowen I. D. The Historical Analysis Of Aspirin Discovery, Its Relation To The Willow Tree And Antiproliferative And Anticancer Potential. *Cell prolifer*, v. 39, n. 2, p. 147-155, 2006.
- Martins, C. A Exposição Sobre a Engenheira Agrônoma Maria Celene Cardoso de Almeida. *Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, v.10, 102- 109, 2013
- Malegori C, Nascimento MEJ, de Freitas ST, Pimentel MF, Pasquini C, Casiraghi E. Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. *Talanta*, v. 165, p. 112-11, 2017.
- Medeiros De Siqueira, K.; Feitosa Martins, C.; Piedade Kiill, L. H.; Torres Silva, L. A. I. Estudo comparativo da polinização em variedades de aceroleiras (*Malpighia emarginata* DC, Malpighiaceae). *Revista Caatinga*, v. 24, n. 2, 2011.
- Melo, C. M. L.; De Castro, M. C. A. B.; De Oliveira, A. P.; Gomes, F. O. S.; Pereira, V. R. A.; Correia, M. T. S.; Paiva, P. M. G. Immunomodulatory Response Of Cramoll 1, 4 Lectin On Experimental Lymphocytes. *Phytotherapy research*, v. 24, n. 11, p. 1631-1636, 2010.
- Min K.; Park K.; Park D. H.; Yoo Y. J. Overview On the Biotechnological Production of L-DOPA. *Appl Microbiol Biotechnol.*, v. 99, n. 2, p. 575-584, 2015.
- Montecucco A.; Zanetta F.; Biamonti G. Molecular Mechanisms of Etoposide. *Excli J*, v. 4, p. 95-108,

2015.

Moraes, Francisca Pereira. Abordagem quimiométrica e avaliação físico-química, bioativa e biológica in vitro da acerola (*Malpighia emarginata*) in natura e liofilizada. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte / Centro de Tecnologia / Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Natal, RN, 2018.

NEPA / Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) – UNICAMP. - 4. ed. rev. e ampl.. -- Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011.

Noble R. L.; Beer C. T.; Cutts J. H. Further Biological Activities of Vinca Leukoblastine - An Alkaloid Isolated from *Vinca rosea* (L.). *Biochem pharm.*, v. 1, p. 347-348, 1958.

Nunes RS, Kahl VFS, Sarmento MS, Richter MF, Abin-Carriquiry JA, Martinez MM, Ferraz ABF, Silva J. Genotoxic and Antigenotoxic Activity of Acerola (*Malpighia glabra* L.) Extract in Relation to the Geographic Origin. *Phytother. Res.*, v. 27, p. 1495–1501, 2013.

Nunes RS, Kahl VFS, Sarmento MS, Richter MF, Costa-Lotufo LV, Rodrigues FAR, Abin-Carriquiry JA, Martinez MM, Ferronato S, Ferraz ABF, Silva J. Antigenotoxicity and Antioxidant Activity of Acerola Fruit (*Malpighia glabra* L.) at Two Stages of Ripeness. *Plant Foods Hum Nutr.*, v. 66, p. 129–135, 2011.

Oliveira LS, Moura CFH, Brito ES, Mamede RVS, Miranda MRA. Antioxidant Metabolism during Fruit Development of Different Acerola (*Malpighia emarginata* D.C) Clones. *J. Agric. Food Chem*, 60(32), 7957–7964, 2012.

Park et al., J.K. Lee, H.S. Kim, S.T. Chung, J.H. Eom, K.A. Kim, H.Y. Oh. Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. *International Immunopharmacology*, 4 (3) (2004), pp. 429-436, 2004.

Pilatti, F. K.; Aguiar, T.; Simões, T.; Benson, E. E.; Viana, A. M. In Vitro and Cryogenic Preservation of Plant Biodiversity in Brazil. *In vitro cellular & developmental biology-plant*, v. 47, n. 1, p. 82-98, 2011.

Pohanka, M., Pejchal, J., Snopkova, S., Havlickova, K., Z Karasova, J., Bostik, P., & Pikula, J. Ascorbic acid: an old player with a broad impact on body physiology including oxidative stress suppression and immunomodulation: a review. *Mini reviews in medicinal chemistry*, v. 12, n. 1, p. 35-43, 2012.

Renslo A. R. Antimalarial Drug Discovery: From Quinine to The Dream of Eradication. *ACS Med Chem Lett*, v. 4, n. 12, p. 1126-1128, 2013.

Rosenblum A.; Marsch L. A.; Joseph Hportenoy, R. K. Opioids and The Treatment of Chronic Pain: Controversies, Current Status, And Future Directions. *Exp clin psychopharmacol*, v. 16, n. 5, p. 405–416, 2008.

Rocha, G. J. M. Deslignificação de Bagaço de Cana de Açúcar Assistida por Oxigênio. 2000. Tese de Doutorado. São Carlos, SP: Universidade Federal de São Carlos.

Rocha, G. J. M.; Martin, C.; Soares, I. B.; Souto-Maior, A. M.; Baudel, H. M.; Abreu, C. A. M. Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, v. 35, p. 663-670, 2011.

Rocha, G. J. M.; Martin, C.; Silva, V. F. N.; Olivarez, E. G.; Gonçalves, A. R. Mass balance of pilot-scale pretreatment of sugarcane bagasse by steam explosion followed by alkaline delignification. *Bioresource Technology*, v. 111, p. 447-452, 2012.

Rodrigues, V.E.G.; Carvalho, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais do domínio cerrado na região do alto rio grande, minas gerais. *Ciência Agrotécnica*, v. 25, p. 102-123, 2011.

Rodrigues-Amaya, Délia B. Fontes Brasileiras de Carotenóides: Tabela Brasileira de Composição

de Carotenóides em Alimentos / Délia B. Rodrigues-Amaya, Mieko Kimura e Jaime Amaya-Farfan [autores]; Lidio Coradin e Vivian Beck Pombo, Organizadores. – Brasília: MMA/SBF, 2008.

Rosso VV, Hillebrand S, Montillab EC, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 21, p. 291–299, 2008.

Russo M, Fanali C, Tripodo G, Dugo P, Muleo R, Dugo L, De Gara L, Mondello L. Analysis of phenolic compounds in different parts of pomegranate (*Punica granatum*) fruit by HPLC-PDA-ESI/MS and evaluation of their antioxidant activity: application to different Italian varieties. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, p. 1-14, 2018.

Seeram NP and Nair M. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. *J Agric Food Chem* 50: 5308-5312, 2002.

Silva, M.; Marini, F.; Melo, R. A survey of cultivated medicinal plants from Solanea, dry area of Paraíba: recognition and recovery of the traditional knowledge. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17 (4) (2015), pp. 881-890, 2015.

Souza, V. C.; Lorenzi, H. *Botânica Sistemática: Guia Ilustrado Para Identificação Das Famílias De Fanerógamas Nativas E Exóticas No Brasil, Baseado Na APG II*. Nova Odessa, Instituto Plantarum, São Paulo, Brasil, 2008.

Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. *J. Med. Food*, v. 14, p. 969-974, 2011.

Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Crocker, D. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). Issue Date: 4/25/2008. Technical Report NREL/TP – 510-42618.

Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Crocker, D. Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples. Laboratory Analytical Procedure (LAP). Issue Date: 12/08/2006. Technical Report NREL/TP – 510-42623.

Sluiter, A.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D. Determination of Extractives in Biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). Issue Date: 7/17/2005. Technical Report NREL/TP – 510-42619.

Sultana, S.; Muhamma, A. H. Medicinal Plants Combating Against Hypertension: A Green Antihypertensive Approach. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 30, n. 6, 2017.

Wang W, Jiang S, Pu T, Fan L, Su F, Ye M. Antifungal activity of phenolic monoterpenes and structure-related compounds against plant pathogenic fungi. *Natural product research.*, p. 1-8, 2018.

Yen GC, Chen CS, Chang WT, Wu MF, Cheng FT, Shiau DK, Hsu CL. Antioxidant activity and anticancer effect of ethanolic and aqueous extracts of the roots of *Ficus beecheyana* and their phenolic components. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 26, p. 182-192, 2018.

Zengin G, Aumeeruddy-Elalfi Z, Mollica A, Yilmaz MA, Mahomoodally MF. In vitro and in silico perspectives on iological and phytochemical profile of three halophyte species - A source of innovative phytopharmaceuticals from nature. *Phytomedicine*, v. 38, p. 35-44, 2018.

## PROTEÍNA MO-CBP<sub>2</sub> EXERCE ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE A DIFERENTES ESPÉCIES DE *CANDIDA* E OCASIONA INIBIÇÃO DE H<sup>+</sup>-ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA

### **João Xavier da Silva Neto**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Larissa Alves Lopes**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Eva Gomes Morais**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Francisco Bruno Silva Freire**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Ana Paula Apolinário da Silva**

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,  
Fortaleza - Ceará

### **Bruno Bezerra da Silva**

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **João Paulo Apolinário da Silva**

Centro Universitário Unifanor Wyden

Engenharia de alimentos, Fortaleza-Ceará

### **Luciana Freitas Oliveira**

Centro Universitário Unifanor Wyden, Fortaleza-  
Ceará

### **Thiago Fernandes Martins**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Claudia Johana Pérez Cardozo**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

### **Johny de Souza Silva**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Fitotecnia, Fortaleza – Ceará

### **Daniele de Oliveira Bezerra de Sousa**

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,  
Fortaleza – Ceará

**RESUMO:** *Candida* spp. são parte de um grupo de patógenos oportunistas que acometem principalmente pacientes imunocomprometidos, aumentando o risco de mortalidade dos mesmos. Muitos dos antimicóticos usados no controle de infecções por *Candida* spp. apresentam toxicidade e são passíveis de desenvolvimento de resistência. Assim, as plantas surgem como fonte promissora de moléculas com efeito antimicóticos, com destaque para as proteínas vegetais. *M. oleifera* é uma planta bem utilizada na medicina popular da Índia, apresentando efeito antimicrobiano. Neste trabalho está sendo relatado o isolamento de uma proteína

das sementes de *M. oleífera* com potencial anticandida. Essa proteína, denominada de  $Mo-CBP_2$ , foi purificada por meio da combinação de cromatografia de afinidade e troca iônica. Por SDS-PAGE, apresentou como uma única banda proteica na faixa de 23,4 kDa. Ensaio *in vitro* mostraram que esta proteína foi ativa contra *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, e *C. tropicalis*, com um  $CIM_{50}$  e  $CIM_{90}$  variando entre 9,45–37,90 e 155,84–260,29  $\mu M$  respectivamente. Como avaliação do modo de ação, foi observado que  $Mo-CBP_2$  ( $CIM_{50}$ ) inibiu a  $H^+$ -ATPase de membrana de leveduras de *C. albicans*, observada pela inibição da acidificação do meio induzida por glicose. Esses resultados sugerem que  $Mo-CBP_2$  apresenta potencial para se tornar um possível novo fármaco antimicótico, podendo ser usado como alternativa aos atuais. Também é sugerido que a atividade da proteína está relacionada com a inibição de  $H^+$ -ATPase de membrana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Etnobotânica. Etonofarmacologia. Biotecnologia.  $CBP_s$ . Antimicrobiano.

## MO-CBP<sub>2</sub> PROTEIN PRODUCED INHIBITORY ACTIVITY AGAINST DIFFERENT SPECIES OF CANDIDA AND INDUCES INHIBITION OF THE PLASMA MEMBRANE H<sup>+</sup>-ATPASE

**ABSTRACT:** *Candida* spp. they are part of a group of opportunistic pathogens that mainly affect immunocompromised patients, increasing their risk of mortality. Many of the antimycotics used to control *Candida* infections are toxic and may develop resistance. Thus, plants appear as a promising source of molecules with antimycotic effect, especially plant proteins. *M. oleífera* is a well used plant in folk medicine of India with antimicrobial effect. In this work the isolation of a protein from *M. oleífera* seeds with anticandida potential is being reported. This protein, called  $Mo-CBP_2$ , was purified by combining affinity chromatography and ion exchange. By SDS-PAGE, it presented as a single protein band in the 23.4 kDa range. In vitro assays have shown that this protein was active against *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, and *C. tropicalis*, with an  $MIC_{50}$  and  $MIC_{90}$  ranging from 9.45–37.90 and 155.84–260.29  $\mu M$  respectively. . As an evaluation of the mode of action, it was observed that  $Mo-CBP_2$  ( $CIM_{50}$ ) inhibited *C. albicans* yeast membrane  $H^+$ -ATPase, observed by the inhibition of glucose-induced acidification of the medium. These results suggest that  $Mo-CBP_2$  has the potential to become a possible new antimycotic drug and can be used as an alternative to the current ones. It is also suggested that the activity of the protein related to membrane  $H^+$ -ATPase inhibition.

**KEYWORDS:** Ethnobotany. Etonopharmacology. Biotechnology. CBPs. Antimicrobial.

## 1 | INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o uso prologado e indiscriminado de antimicrobianos tem levado ao surgimento constante de microrganismos resistentes. Semelhantemente,

os fungos desenvolvem elevada resistência aos antimicóticos comumente usados, principalmente pela pouca variedade de drogas disponíveis e mutações sofridas pelos fungos (Abdelrahman et al., 2018). Fungos do gênero *Candida* são naturalmente encontrados em várias partes do corpo humano. Dentre as espécies mais isoladas se destacam *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. São fungos oportunistas que ocasionam infecções conhecidas como candidíases, principalmente em pacientes imunocomprometidos. (Garcia et al., 2018).

Os antimicóticos usados atualmente não são totalmente efetivos, pois os fungos apresentam mecanismos de resistência (Sanglard et al., 2016) e os fármacos exibem certo nível de toxicidade para o ser humano (Dimopoulou et al., 2017). Na busca por novos antimicóticos, as plantas se destacam, principalmente como fonte de proteínas biologicamente ativas. *Moringa oleifera* Lamarck (*Moringaceae*) é uma planta natural da Índia que é comumente usada na medicina tradicional e como fonte de alimento (Freitas et al., 2016). Dela já foram isoladas proteínas com atividade frente a fungos fitopatogênicos. Essas proteínas são denominadas *Mo-CBP<sub>3</sub>* e *Mo-CBP<sub>4</sub>* (Pereira et al., 2011; Gifoni et al., 2012). Neste trabalho é destacado a purificação de *Mo-CBP<sub>2</sub>*, uma nova proteína ligante a quitina de *M. oleifera*, bem como a avaliação de seu efeito anticandida e determinação de seu modo de ação.

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Purificação de *MO-CBP<sub>2</sub>*

Neste trabalho foi utilizado a proteína pura *Mo-CBP<sub>2</sub>* obtida após a fração albumina das sementes *M. oleifera* ser submetido a processo cromatográfica de afinidade e em seguida de troca iônica. Depois de isolada, a proteína foi observada em SDS-Page (Laemmli, 1970) para determinar o seu grau de pureza. As proteínas solúveis foram quantificadas pelo método de Bradford (1976) e lidas a 280 nm para o acompanhamento dos processos cromatográficos.

### 2.2 Atividade anticandida

Nesta pesquisa foram utilizadas cepas padrão de *C. albicans* (ATCC 10231), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 6258) e uma cepa de isolado clínico de *C. tropicalis*. O teste de atividade antifúngica seguiu a metodologia descrita pela CLSI. Inicialmente, uma solução estoque de leveduras foi incubada em placas contendo meio de cultura batata-dextrose-agar e incubado por 24 horas, 37° C. Em seguida, uma colônia isolada da placa foi dissolvida em meio caldo batata-dextrose ficando com DO (densidade óptica) a 620 nm de 0,1. Essa solução foi diluída 1.000 vezes em caldo batata-dextrose, gerando o inóculo final ( $2,5 \times 10^3$  UFC/mL). *Mo-CBP<sub>2</sub>*, (0,1-1.346,46  $\mu$ M), nistatina (0,085-1.067,04  $\mu$ M) e itraconazol (0,088-2.832,50  $\mu$ M)

foram preparados em NaCl 150 mM. Uma alíquota de 100  $\mu$ L de cada antifúngico foi incubado com 100  $\mu$ L de inóculo final por 24 horas, 37° C. O crescimento foi observado a 620 nm após 24 horas após início do ensaio. A concentração inibitória mínima foi definida como a menor concentração necessária para inibir o crescimento fúngico em 50 e 90% respectivamente.

### 2.3 Inibição da acidificação do meio externo estimulada por glicose

Esse ensaio foi realizado para observar o efeito de *Mo*-CBP<sub>2</sub> na inibição de H<sup>+</sup>-ATPase de membrana de leveduras de *C. albicans*. Assim, 7989  $\mu$ L de suspensão de leveduras ( $2,5 \times 10^3$  UFC/mL) foram misturadas com 20  $\mu$ L de *Mo*-CBP<sub>2</sub> ou albumina sérica bovina (BSA). A solução foi incubada por 1 hora, 37° C, sobre agitação leve. Em seguida, glicose 5 M (300  $\mu$ L) foi adicionada ao meio reacional e o pH foi mensurado após 30 minutos. *Mo*-CBP<sub>2</sub>, BSA, glicose e inóculo final de células foram preparados em tampão Tris-HCl, pH 7,2, 50 mM. A quantidade de inibição foi calculada em comparação com o grupo do controle negativo (tampão tris-HCl) (Monk et al., 1994).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que a proteína pura se apresentou como apenas uma banda proteica com massa molecular aparente de 23,4 kDa kDa (Figura 1). *Mo*-CBP<sub>2</sub> foi purificada com êxito e não apresentou contaminantes.

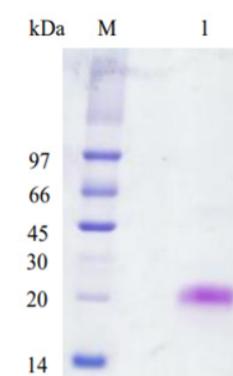


Figura 1. Perfil eletroforético da proteína *Mo*-CBP<sub>2</sub>. M = Marcadores de massa molecular. I = *Mo*-CBP<sub>2</sub> (2  $\mu$ g).

*Mo*-CBP<sub>2</sub> foi purificada da fração albumina das sementes de *M. oleífera*, caracterizando-a como um possível membro da família das albuminas. Na literatura a vários relatos de albuminas vegetais com atividade antifúngica (Cândido et al., 2011; Ribeiro et al., 2012).

Os ensaios de atividade anticandida demonstraram que *Mo*-CBP<sub>2</sub> apresenta grande espectro de ação contra *Candida* spp., sendo capaz de inibir todas as 4

cepas testadas. CIM<sub>50</sub> de *Mo*-CBP<sub>2</sub> variou entre 9,45 – 37,90  $\mu$ M. Já o CIM<sub>90</sub> variou entre 155,84 – 260,94  $\mu$ M. A cepa mais sensível a presença de *Mo*-CBP<sub>2</sub> foi *C. krusei*. Interessantemente, *C. krusei* é reconhecidamente resistente a fluconazol e apresenta sensibilidade diminuída a anfotericina B (Sharifzadeh et al., 2017; Silva et al., 2018).

Foi observado também que o tratamento com *Mo*-CBP<sub>2</sub> ocasionou uma forte redução na acidificação do meio induzido por glicose (Figura 2). Esse resultado sugere que houve atividade ensaio de acidificação média induzida por glicose foi observado que sua proteína possui atividade inibitória da H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática. A H<sup>+</sup>-ATPase fúngica é uma enzima transmembranar que apresenta vários papéis no metabólicos, mantendo a fisiologia celular e o gradiente de prótons eletroquímico transmembranar necessário para a absorção de nutrientes. Devido a sua grande relevância, a H<sup>+</sup>-ATPase surge como um alvo para a ação de novos agentes antifúngicos (Kongstad et al., 2015; Orié et al., 2017).

Cepas	<i>Mo</i> -CBP <sub>2</sub>	Itraconazol	Nistatina
<i>C. albicans</i> ATCC 10231			
CIM <sub>50</sub> ( $\mu$ M) <sup>b</sup>	18,90 <sup>A</sup>	11,33 <sup>B</sup>	11,11 <sup>C</sup>
CIM <sub>90</sub> ( $\mu$ M) <sup>c</sup>	169,50 <sup>A</sup>	67,98 <sup>B</sup>	55,55 <sup>C</sup>
<i>C. krusei</i> ATCC 6258			
CIM <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	9,45 <sup>A</sup>	22,67 <sup>B</sup>	11,11 <sup>C</sup>
CIM <sub>90</sub> ( $\mu$ M)	155,84 <sup>A</sup>	136,02 <sup>B</sup>	55,55 <sup>C</sup>
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019			
CIM <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	37,90 <sup>A</sup>	11,33 <sup>B</sup>	22,23 <sup>C</sup>
CIM <sub>90</sub> ( $\mu$ M)	260,29 <sup>A</sup>	67,98 <sup>B</sup>	133,38 <sup>C</sup>
<i>C. tropicalis</i> <sup>d</sup>			
CIM <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	18,90 <sup>A</sup>	22,67 <sup>B</sup>	22,23 <sup>C</sup>
CIM <sub>90</sub> ( $\mu$ M)	180,98 <sup>A</sup>	136,02 <sup>B</sup>	133,38 <sup>C</sup>

Tabela 1. Atividade antifúngica<sup>a</sup> de *Mo*-CBP<sub>2</sub>, nistatina e itraconazol contra *Candida* spp.

<sup>a</sup>a atividade antifúngica foi avaliada após 24 horas de incubação, 37 °C.

<sup>b,c</sup> Concentração inibitória mínima que inibiu 50% e 90% de crescimento fúngico.

<sup>d</sup>Isolado clínico.

<sup>A B C D</sup> Diferença significativa entre CIMs de *Mo*-CBP<sub>2</sub>, itraconazol e nistatina para mesma espécie. A análise estatística foi realizada através de ANOVA a Tukey test. ( $P < 0,05$ ).

Foi observado também que o tratamento com *Mo*-CBP<sub>2</sub> ocasionou uma forte redução na acidificação do meio induzido por glicose (Figura 2). Esse resultado sugere que a proteína *Mo*-CBP<sub>2</sub> possui atividade inibitória para a H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática. A H<sup>+</sup>-ATPase fúngica é uma proteína transmembranar que apresenta vários papéis metabólicos, mantendo a fisiologia celular e o gradiente de prótons eletroquímico transmembranar necessário para a absorção de nutrientes. Devido a sua grande relevância, a H<sup>+</sup>-ATPase surge como um alvo para a ação de

novos agentes antifúngicos (Kongstad et al., 2015; Orié et al., 2017).

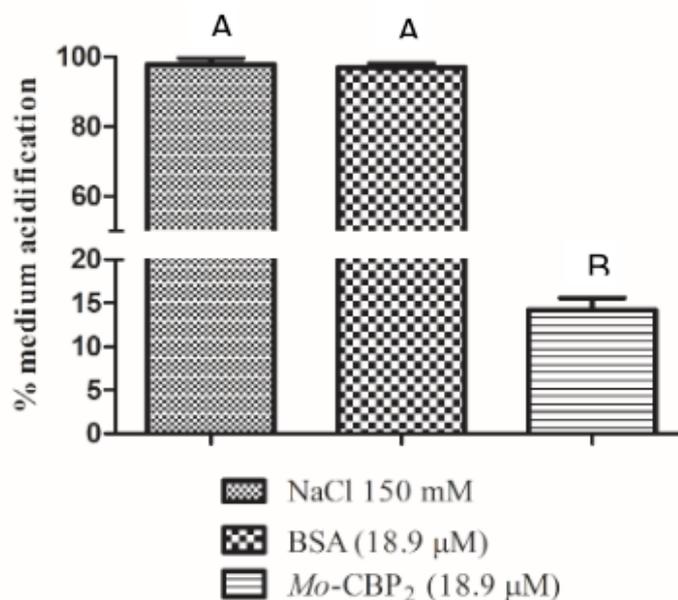


Figura 2. Influência de *Mo-CBP*<sub>2</sub> e BSA na acidificação do meio induzida por glicose. Letras diferentes representam diferença significativa entre médias por meio do Tukey test. ( $P < 0,05$ ).

#### 4 | CONCLUSÃO

Com os resultados descritos neste trabalho fica evidente que o processo de purificação descrito previamente, foi satisfatório, resultando em uma proteína pura e integra. Também ficou evidenciado o potencial biotecnológico de *Mo-CBP*<sub>2</sub> como um antimicótico, sendo demonstrado isso através de seu amplo de espectro de ação frente a diferentes espécies de *Candida*. Sua atividade inibitória, como demonstrado, parece estar associada com a inibição de H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática destas leveduras. Mais estudos devem ser realizados visando melhor determinar o modo de ação desta molécula e seus eventuais efeitos tóxicos em células de mamíferos.

#### REFERÊNCIAS

Abdelrahman., K. et al. ***In vitro* activity of dihydropyrazole derivatives against *Candida* species.** Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University. V. 56, 80-82, 2018.

Laemmli, U. K. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4,** Nature. V. 227, 680–685, 1970.

Cândido, E. S. et al. **Plant storage proteins with antimicrobial activity: novel insights into plant defense mechanism.** The FASEB Journal. V. 25, 1-16, 2011.

Bradford, M. M. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** Analytical Biochemistry. V. 72, 248-254, 1976.

Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**; 4th Informational Supplement. CLSI Document M27-S4. Wayne, PA, 2012.

Monk, B. C. et al. **Fungal Plasma Membrane Proton Pumps as Promising New Antifungal Targets**. *Critical Reviews in Microbiol.* V. 20, 209-223, 1994.

Ribeiro, S. F. et al. ***Caspsicum annuum* l. trypsin inhibitor as a template scaffold for new drug development against pathogenic yeast**. *Antonie Van Leeuwenhoek.* V. 101, 657-670, 2012.

Sharifzadeh, A. et al. **Synergistic anticandidal activity of menthol in combination with itraconazole and nystatin against clinical *Candida glabrata* and *Candida krusei* isolates**. *Microbial Pathogenesis.* V. 107, 390-396, 2017.

Garcia, L. G. S. et al. **Effect of molecular weight of chitosan on its antifungal activity against *Candida* spp. in planktonic cells and biofilm**. *Carbohydrate Polymers.* V. 192, 662-669, 2018.

Silva, P. M. et al. **PgTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei***. *International Journal of Biological Macromolecules.* V. 108, 391-400, 2018.

Kongstad, K. T. et al. **Fungal plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase inhibitory activity of o-hydroxybenzylated flavanones and chalcones from *Uvaria chamae* P. Beauv.** *Fitoterapia.* V. 105, 102-106, 2015.

Orie, N. N. et al. ***In vitro* Assessment of the growth and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase inhibitory activity of ebselen and structurally related selenium- and sulfur containing compounds *In Candida albicans***. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology.* V. 31, 1-7, 2017.

Sanglard, D. **Emerging Threats in Antifungal Resistant Fungal Pathogens**. *Frontiers in Medicine.* V. 11, 1-10, 2016.

Dimopoulou, M. et al. **Embryotoxic and pharmacologic potency ranking of six azoles in the rat whole embryo culture by morphological and transcriptomic analysis**. *Toxicology and Applied Pharmacology.* V. 322, 15-26, 2017.

Freitas, J. H. et al. **Evaluation of using aluminum sulfate and water-soluble *Moringa oleifera* seed lectin to reduce turbidity and toxicity of polluted stream water**. *Chemosphere.* V. 163, 133-141, 2016.

Gifoni, J. M. et al. **A novel chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seed with potential for plant disease control**. *Biopolymers.* V. 98, 406-415, 2012.

Pereira, M. L. et al. **Purification of a chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds with potential to relieve pain and inflammation**. *Protein & Peptide Letters.* V. 18, 1078-1085, 2011.

## OS EFEITOS DA MICROCORRENTE E DO OLIGOELEMENTO SELÊNIO NAS DISFUNÇÕES TECIDUAIS DA FACE DO TABAGISTA

**Cristiane Rissatto Jettar Lima**

UniSALESIANO - Lins-SP

**Anne Dryelle De Souza Silva**

UniSALESIANO - Lins-SP

**Isabela Mayara Souza Santos**

UniSALESIANO - Lins-SP

**Edneia Nunes Macedo**

UniSALESIANO - Lins-SP

**Jovira Maria Sarraceni**

UniSALESIANO – Lins-SP

**Luciana Marcatto Fernandes Lhamas**

UniSALESIANO - Lins-SP

**Suelen Moura Zanquim Silva**

UniSALESIANO - Lins-SP

**RESUMO:** O tabagismo contribui para a perda do colágeno e elastina, tornando a pele opaca, sem viço e desvitalizada. A microcorrente atua aumentando o transporte ativo nas membranas, incrementa a elasticidade, promove a revitalização cutânea. O selênio é antioxidante, bloqueia as reações do envelhecimento da pele protegendo as células contra a agressão dos radicais livres. O objetivo desse estudo foi comparar os efeitos da microcorrente e do oligoelemento selênio nas disfunções teciduais da face do tabagista quando associados e individualizados. Foram selecionados quinze voluntários de ambos os sexos, com idade entre vinte e vinte e cinco anos, avaliados por

meio de anamnese, randomizados e alocados em cinco grupos. O experimento foi realizado por quarenta e cinco dias, na Clínica de Estética do Unisalesiano de Lins/SP, com frequência de duas sessões semanais. A análise dos resultados por meio de registros fotográficos demonstrou uma melhora na coloração, viço, turgor e uniformização da pele nos grupos microcorrente associados ao selênio oral e tópico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Tabagismo. Microcorrentes. Oligoelemento. Selênio

### THE EFFECTS OF MICROCORRENT AND THE SELENIUM TRACE ELEMENTS IN TABAGISTA'S FACIAL DYSFUNCTIONS

**ABSTRACT:** Smoking contributes to the loss of collagen and elastin, making the skin opaque, devoid of vitality and devitalized. The microcurrent acts increasing the active transport in the membranes, increases the elasticity, promotes the skin revitalization. The selenium has antioxidant action, blocks the oxidation and aging reactions of the skin protecting the cells against the aggression of free radicals. The objective of this study was to compare the effects of the microcurrent and the selenium trace element on the tissue dysfunctions of the smoker face when associated and individualized. It was

selected fifteen volunteers of both genders, between the ages of twenty and twenty-five, evaluated by means of anamnesis form, randomized and allocated in five groups. The experiment was carried out for forty five days at the Aesthetic Clinic of Unisaesiano in Lins state of São Paulo, in a period of two weekly sessions. The analysis of the results by means of photographic records showed an improvement in the coloration, luster, turgor and uniformity of the skin in the microcurrent groups associated with oral and topical selenium.

**KEYWORDS:** Smoking. Microcurrent. Trace element. Selenium

## 1 | INTRODUÇÃO

O presente estudo tem como escopo o uso da microcorrente e do oligoelemento selênio nas disfunções teciduais na face do tabagista. Trata-se de uma pesquisa experimental, com abordagem qualitativa, que teve como objetivo verificar os efeitos dos recursos supracitados. Como hipótese aventou-se que a associação da microcorrente e do selênio ofereceria melhor resultado quando comparado aos recursos utilizados individualmente. A microcorrente melhora a nutrição e oxigenação tecidual, além da estimulação fibroblástica, produzindo maior síntese colágena (CARVALHO, 2011 apud BORGES, 2006). O selênio por sua vez é reconhecido como potente antioxidante, combate os radicais livres e atua para retardar o processo de envelhecimento (SALVADOR, 2015).

O tratamento ortomolecular estético age na neutralização dos radicais livres, prejudiciais ao funcionamento das células e restabelecem o equilíbrio químico orgânico, eliminando toxinas e metais pesados (INNOVARE, 2016).

O tabagismo está associado ao envelhecimento precoce, com perda do turgor, brilho e elasticidade da pele, deixando-a com um aspecto pardo ou amarelado. Em geral, ocorre o aparecimento precoce das rugas e manchas. O mecanismo que conduz ao envelhecimento precoce está associado à vasoconstrição periférica, isso significa menor oferta de nutrientes e de oxigênio, o que constitui um envelhecimento prematuro com diminuição da produção de colágeno (JULIO, 2010).

A microcorrente é uma modalidade de terapia não invasiva que usa corrente de baixa amperagem, em microampéres ( $\mu\text{A}$ ) com alternância de polaridade positiva e negativa a cada 3 segundos. Seus efeitos terapêuticos relacionam-se ao aumento do metabolismo celular, estímulo do processo de reparo e regeneração tecidual, normalização do pH local, aumento da síntese de colágeno e elastina. Seus efeitos fisiológicos estão baseados no estímulo da microcirculação cutânea, com consequente melhora na nutrição e oxigenação gerando um efeito revitalizante nos tecidos (OLIVEIRA, 2011).

### 1.1 Tabagismo

#### 1.1.1 Tabagismo e o envelhecimento precoce

Sabendo que o envelhecimento é um processo natural do ciclo da vida, que funciona sob a ação do código genético e com o passar dos anos faz com que a pele passe por transformações, essas precisam ser entendidas e respeitadas. Entretanto, essas alterações podem se acelerar se acrescidas de alguns fatores do meio, entre eles o tabagismo. (PANDOLFO, 2010 apud LIMA; LOURENÇO, 2012). Um dos efeitos do cigarro na pele é a perda do colágeno natural que a torna mais flácida e com menor tônus. Outro efeito é o surgimento de rugas e linhas de expressão próximas à boca, devido à repetição do movimento de tragar que, com o tempo, reduz a elasticidade e força da área. Ademais, um efeito similar que também causa incômodo é o aumento na incidência de manchas, que tornam o tom da pele irregular, levemente acinzentado e opaco. (SILVA, 2017).

### 1.1.2 Envelhecimento x Radicais Livres

Para Rocha (2017) os radicais livres são moléculas instáveis naturalmente produzidas pelo corpo no processo de produção da energia celular. Ao circularem pelo organismo, retiram oxigênio de outras moléculas para se tornar estáveis, causando danos em células saudáveis. Entretanto, o organismo está sempre trabalhando em busca do equilíbrio, sendo assim, ele tem mecanismos que auxiliam a reparar os danos causados nas células e inclusive desativar os radicais livres, antes que eles precisem danificar alguma molécula.

Segundo Salvador (2015) alguns dos principais vilões do envelhecimento é o radical livre, substâncias nocivas capazes de danificar a pele e suas estruturas, acelerando o processo de envelhecimento cutâneo. Os principais agentes externos que induzem a formação de radicais livres são: poluição ambiental; radiação ultravioleta; tabagismo; consumo de álcool; pesticidas; estresse. Os efeitos dos radicais livres no envelhecimento ocorrem através de um processo conhecido como estresse oxidativo, levando a uma alteração nas funções biológicas de proteínas, como o colágeno: com o aumento da degradação das fibras de colágeno surge a flacidez na pele e o aparecimento das rugas. Existe ainda o acúmulo de elastina, característica do fotoenvelhecimento. (SALVADOR, 2015).

## 1.2 Microcorrentes

A Microcorrente, conhecida também como MENS (*Micro Electro Neuro Stimulation*), é definida como um tipo de eletroestimulação na qual utiliza-se correntes com parâmetros de baixa intensidade na faixa de microampéres, e de baixa frequência, contendo corrente contínua ou alternada (BORGES, 2006). De acordo com Oliveira (2011) a eletroestimulação por microcorrente tem como principal característica atuar a nível celular e de microestruturas, produzindo micro estimulação e neuro estimulação. Estudos mostram que a microcorrente atinge

melhores resultados com intensidade de 10 a 500 microampères e frequência em 0,5 Hz a 900 Hz. Difere-se de outras correntes eletro terapêuticas em relação à percepção da sensação de formigamento, por não conseguir ativar as fibras nervosas sensoriais cutâneas, proporcionando ao paciente maior conforto durante a sua aplicação. (ROBINSON; SNYDER-MACKLER, 2001 apud MELLO et al., 2008).

### *1.2.1 Indicações e contraindicações*

Segundo Borges (2006) as indicações são revitalização cutânea, processos de reparação tecidual, normalização de tecido, estrias, tratamento para quadro acneico, prevenção do envelhecimento cutâneo e quadro de rosácea e as contraindicações são gestantes, epiléticos, portadores de próteses metálicas, portadores de marca-passo, cardiopatas, infecções cutâneas e neoplasias.

### *1.2.2 Microcorrentes no rejuvenescimento da pele*

Na estimulação por microcorrente ocorre uma melhor oxigenação e nutrição do tecido, formação de maior e melhor quantidade de fibroblastos e beneficia o sistema linfático. (OLIVEIRA, 2011). Na pele envelhecida a microcirculação está comprometida, a microcorrente promove a regeneração celular através da ativação produzida nas células, aumentando a produção de colágeno e elastina, promovendo uma pele mais firme, intensificando a circulação, aumentando a oxigenação celular, clareando a pele, tonificando o tecido e combatendo a flacidez. (SORIANO et al; 2002 apud OLIVEIRA, 2011). De acordo com Froes (2014) pesquisas mostraram que o crescimento dos fibroblastos e o alinhamento das fibras de colágeno foram incrementados com a estimulação de microcorrentes e que, a resposta máxima dos fibroblastos foi observada nas proximidades do cátodo.

## **1.3 Terapia ortomolecular**

A Terapia Ortomolecular é um estudo fundamentado no terreno funcional de cada indivíduo, no estudo dos desequilíbrios e formas de ajustar através de oligoelementos específicos. Faz parte da terapia alternativa na qual acredita-se que disfunções são resultados de desequilíbrios químicos, os benefícios do tratamento são numerosos e muito eficazes. (INNOVARE, 2016).

### *1.3.1 Benefícios da terapia ortomolecular*

Os tratamentos podem ser utilizados para fins estéticos, de saúde e visando uma melhoria da qualidade de vida. Procuram este tipo de tratamento pessoas que desejam desde o emagrecimento até solução para as disfunções estéticas como: envelhecimento, flacidez, gordura localizada e manchas. Os benefícios estéticos são

inúmeros, pois restabelecem o equilíbrio químico do organismo, eliminando toxinas, radicais livres, metais pesados, hidratação, renovação celular flexibilidades das fibras de colágeno e do tecido vascular (INNOVARE, 2016).

## 1.4 Oligoelementos

Para Rosário (2008) oligoelemento significa pequena quantidade de elementos, eles são substâncias de origem mineral, mais conhecido como biocatalizadores. Podem ser extraídos da natureza para consumo farmacológico e cosmetológico. Estão presentes no organismo humano em traços ínfimos e representam no organismo inferior a 100 mg. Embora sua quantidade seja muito pequena, os oligoelementos são indispensáveis para o bom funcionamento orgânico. É importante lembrar que o organismo humano não possui capacidade de sintetizar essas substâncias, elas são fornecidas através da alimentação e dos cosméticos.

### 1.4.1 Benefícios do oligoelemento selênio

Para Sabino (2017) o selênio é um antioxidante de prevenção, mineral presente na castanha do Brasil ou castanha do Pará, previne a formação de radicais livres, atenuando sua produção. Ele ainda melhora a resposta imunológica do organismo, retarda o envelhecimento, previne doenças cardiovasculares e é essencial para formação do T3, hormônio ativo no funcionamento da tireóide. O selênio também está relacionado com a proteção, frente ao dano causado pelo estresse oxidativo. Na pele, o selênio está presente como parte da redutase, da tioredoxina, da peroxidase e da glutathione, que partilham o papel principal na defesa celular contra o estresse oxidativo. Ambas as enzimas protegem a pele da formação de lesões oxidativas, ao eliminarem diretamente as espécies reativas de oxigênio (EROs) e radicais livres. (SABINO, 2017).

## 2 | METODOLOGIA E EXPERIMENTO

### 2.1 Desenho de Estudo

Trata-se de uma pesquisa experimental de caráter qualitativo com o objetivo de demonstrar que, os recursos quando associados, promovam resultado mais significativo nas disfunções teciduais do tabagista por seus efeitos combinados em relação a viço, textura, turgor e hidratação da pele.

O projeto de pesquisa atendeu a resolução 466 e 510 do Conselho Nacional de Saúde, foi submetido a Plataforma Brasil do Ministério da Saúde e aprovado pelo Comitê de Ética no Unisalesiano, parecer nº 2.683.402 em 29/05/2018.

## 2.2 Critérios de inclusão e exclusão

Como critérios de inclusão, foram eleitos voluntários de ambos os sexos tabagistas, na faixa etária entre 20 a 25 anos. Como critérios de exclusão foram dispensados voluntários que se recusaram a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido e que apresentaram contraindicações ao uso da microcorrente: gestantes, epiléticos, portadores de próteses metálicas, portadores de marca-passo, cardiopatas, infecções cutâneas e neoplasias.

## 2.3 Procedimento Experimental

A pesquisa foi realizada no Centro Universitário Católico Salesiano *Auxilium* - Clínica de Estética situada na cidade de Lins - SP, ambiente tranquilo, climatizado, iluminado e com condições de biossegurança.

Para a realização do experimento foram recrutados quinze voluntários por meio de convite pessoal, randomizados e alocados aleatoriamente em 5 grupos.

Previamente ao início do experimento os voluntários foram esclarecidos sobre o objetivo e metodologia da pesquisa, bem como sobre os riscos e benefícios. Foram submetidos a uma anamnese facial, seguida de coleta de imagens, e todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O Grupo Microcorrente foi submetido a higienização e esfoliação com sabonete de microesferas de polietileno brancas a 2%, aplicação da microcorrente baixa intensidade com corrente contínua de 200 $\mu$ A, polaridade alternada de corrente elétrica por 30 minutos e finalização com aplicação de protetor solar FPS 30.

O Grupo Selênio Oral foi submetido a 10 borrifadas do oligoelemento selênio sublingual, 3 vezes ao dia (manhã, tarde e noite) por 45 dias.

O Grupo Selênio Tópico foi submetido a higienização e esfoliação com sabonete de microesferas de polietileno brancas a 2%, aplicação do selênio tópico e finalização com aplicação de protetor solar FPS 30.

O grupo Microcorrente e Selênio Oral foi submetido a higienização e esfoliação com sabonete de microesferas de polietileno brancas a 2%, aplicação da microcorrente baixa intensidade com corrente contínua de 200 $\mu$ A, polaridade alternada de corrente elétrica por 30 minutos, periodicidade de duas sessões semanais e finalização com aplicação de protetor solar e 10 borrifadas do oligoelemento selênio sublingual 3 vezes ao dia (manhã, tarde e noite) por 45 dias.

O grupo Microcorrente e Selênio Tópico foi submetido a higienização e esfoliação com sabonete de microesferas de polietileno brancas a 2%, aplicação da microcorrente baixa intensidade com corrente contínua de 200 $\mu$ A, com polaridade alternada de corrente elétrica por 30 minutos, periodicidade de duas sessões semanais, aplicação do selênio tópico e finalização com aplicação de protetor solar FPS 30.

Durante a realização da pesquisa houve desistência de seis voluntários, o que

caracteriza-se como um fator limitante, sendo dois no Grupo Microcorrente e um nos demais grupos.

O experimento compreendeu o período de setembro e outubro de 2018, sendo realizadas 10 sessões. Foram coletados registros fotográficos antecedendo a primeira sessão e imediatamente posterior à última sessão.

### 3 | ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS



Pré

Pós

Figura1 – Grupo Microcorrente

Voluntária 1

Fonte: elaborada pelas autoras, 2018



Pré

Pós

Figura 2 – Grupo Selênio Oral

Voluntário 1

Fonte: elaborada pelas autoras, 2018



Pré

Pós

Voluntário 2

Fonte: elaborada pelas autoras, 2018



Pré

Pós

Figura 3 – Grupo Selênio Tópico

Voluntário 1

Fonte: elaborada pelas autoras, 2018



Pré

Pós

Voluntário 2

Fonte: elaborada pelas autoras, 2018



Pré

Pós

FIGURA 4 – Grupo Microcorrente e Selênio Oral

Voluntária 1



Pré

Pós

Voluntária 2

Fonte: elaborada pelas autoras, 2018



Pré

Pós

Figura 5 – Grupo Microcorrente e Selênio Tópico

Voluntário 1

Fonte: elaborada pelas autoras, 2018



Pré

Pós

Voluntário 2

Fonte: elaborada pelas autoras, 2018

Nos grupos em que ocorreu a associação dos recursos, microcorrente e selênio tópico e oral observou-se melhor resultado quando comparado aos recursos utilizados separadamente, com melhora da hidratação, turgor, viço, clareamento, luminosidade e textura da pele, confirmando a hipótese aventada.

Sugere-se que a não obtenção de resultados relevantes no grupo microcorrente, ocorreu devido a não associação ao oligoelemento selênio. No grupo Selênio Tópico, a aplicação do oligoelemento não foi diária, somente duas aplicações semanais. Já no grupo Selênio Oral supõe-se que a não obtenção de melhores resultados aconteceu em virtude da não utilização correta do oligoelemento, dado colhido pelo *feedback* dos voluntários, conforme orientado.

### 3.1 Discussão

De acordo com Nogueira (2016) a microcorrente promove revitalização cutânea, melhorando a tonicidade tecidual e a flacidez, incrementa a elasticidade, viscosidade e brilho, com conseqüente melhora na nutrição e oxigenação do tecido, os quais geram um efeito revitalizante.

Segundo Serejo (2017) o selênio é um mineral que participa da formação de enzimas de ação antioxidante, tendo fundamental papel na neutralização dos radicais livres, assim atua retardando o processo de envelhecimento.

Tais afirmações supracitadas corroboram com os resultados desta pesquisa no que diz respeito aos Grupos Microcorrente associada ao Selênio Tópico e Microcorrente associada ao Selênio Oral, em que se pôde observar melhora na textura, viço, hidratação e turgor tecidual, além da harmonização facial e aumento da luminosidade da pele.

Busca-se explicar que os recursos quando associados, promoveram resultados mais significativos nas disfunções teciduais do tabagista por seus efeitos combinados. Borges (2006) explicita que a microcorrente aumenta a permeabilidade cutânea e da membrana celular, melhora a oxigenação do tecido, aumenta a síntese de colágeno

e de ATP em até 500%, utilizando-se a intensidade de 200 mA. O selênio aumenta o equilíbrio orgânico, incrementa a energia celular e neutraliza os radicais livres (INNOVARE, 2016).

Vale ressaltar que nenhum dos voluntários se absteve do tabagismo no período do experimento, o que pode ter influenciado a não obtenção de melhores resultados, explica Silva (2017) que os efeitos do cigarro na pele são a perda do colágeno natural, que a torna mais flácida e com menor tônus, surgimento de rugas e linhas de expressão próximas à boca, aumento na incidência de manchas tornando o tom da pele irregular, levemente acinzentado e opaco.

## 4 | CONCLUSÃO

Conclui-se após a realização desse experimento que nos grupos microcorrente associada ao selênio oral e microcorrente associada ao selênio tópico obteve-se resposta mais satisfatória quanto à hidratação, turgor, coloração, viço tecidual com consequente harmonização facial e uma pele mais saudável. Nos demais grupos não houve modificação satisfatória.

Considera-se que a pesquisa desenvolvida é de grande importância para os profissionais em estética, pela comprovação da eficácia destes recursos utilizados em associação no tratamento das disfunções faciais do tabagista, bem como oportunizou a experiência correlacionando a teoria com a prática. Finalmente sugere-se a realização de um maior número de pesquisas sobre o tema, bem como de forma mais ampla e com maior número de sessões, sedimentando desta forma, aprofundar o conhecimento dos efeitos e possibilidades de tratamentos com a microcorrente e o selênio.

## REFERÊNCIAS

BORGES, Fabio dos Santos. **Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas**. São Paulo: Editora Phorte, 2006.

CÂMARA, Vivianne Lira Da. **Anatomia e fisiologia da pele**. 26 de junho 2009 [s.l.]. Disponível em: [http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/2054/anatomia\\_e\\_fisiologia\\_da\\_pele.htm](http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/2054/anatomia_e_fisiologia_da_pele.htm). Acesso em: 30 maio 2018.

FROES, Patrícia. **Microcorrente rejuvenesce. Mito ou verdade**. 24 março 2014. [s.l.]. Disponível em: <http://negocioestetica.com.br/site/microcorrente-rejuvenesce-mito-ou-verdade/>. Acesso em: 26 maio 2018.

INNOVARE, Centro. **Conheça a importância do tratamento ortomolecular para a estética**. 05 agosto 2016. [s.l.]. Disponível em: <https://cidadeverde.com/noticias/226324/conheca-a-importancia-do-tratamento-ortomolecular-para-a-estetica>. Acesso em: 05 junho 2018.

JULIO, Gerson Luiz. **Tabagismo provoca envelhecimento precoce na pele**. 19 agosto 2010. [s.l.]. Disponível em: <http://www.minhavidade.com.br/beleza/>

materias/11780-tabagismo-provo-ca-envelhecimento-precoce-da-pele. Acesso em: 23 maio 2018.

LIMA, Fernanda Jose De; LOURENÇO, Nisiclei Marcos. **Influência do tabagismo no envelhecimento cutâneo: Sugestões de tratamento**. 2012. 17p. Trabalho de conclusão de curso (graduação) Universidade do Vale do Itajaí. Disponível em: <http://siaibib01.univali.br/pdf/Fernanda%20Jose%20de%20Lima,%20Nisiclei%20Marcos%20Lourenco.pdf>. Acesso em: 25 maio 2012.

MELLO, Fernanda de Souza; PINE Lisley Malosso; CORREIA Monise Possebom. **A Fisioterapia Dermato – Funcional na Prevenção e no Tratamento de Envelhecimento Facial**. 2008. 59p. Trabalho de conclusão de curso (pós-graduação). Centro Universitário Católica Salesiano Auxilium – Lins. Disponível em: <http://www.unisalesiano.edu.br/biblioteca/monografias/44005.pdf>. Acesso em: 25 maio 2018

NOGUEIRA, Joffre Filho. Microcorrentes na revitalização facial. 27 maio 2016. [s.l.]. Disponível em: <http://www.drjoffre.com.br/microcorrentes-na-revitalizacao-facial/>. Acesso em: 29 outubro 2018.

OLIVEIRA, Vanessa Carvalho De. **A eletroestimulação por microcorrentes na revitalização facial**. 2011. 29p. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade redentor instituto itesa. São Paulo. Disponível em: [https://arquivos.5gsistemas.com.br/PosRedentor/arquivos/conteudo\\_542b221bba37d.pdf](https://arquivos.5gsistemas.com.br/PosRedentor/arquivos/conteudo_542b221bba37d.pdf). Acesso em: 25 maio 2018.

ROCHA, Ana Carolina. **Radicais livres e envelhecimento da pele: 9 dicas nutricionais infalíveis para minimizar as ações**. 01 maio 2017. [s.l.]. Disponível em: <https://geracaofit.com/radicais-livres/>. Acesso em: 23 maio 2018.

ROSÁRIO, Myrian. **Você sabe o que são oligoelementos**. 12 fevereiro 2008. [s.l.]. Disponível em: <https://guiame.com.br/gospel/familia/voce-sabe-o-que-sao-oligoelementos.html>. Acesso em: 03 junho 2018.

SABINO, Marcos. **Selênio – um aliado ao anti-envelhecimento e um antioxidante para os desportistas**. 01 abril 2017. [s.l.]. Disponível em: <http://tafitness.net/selenio-um-aliado-ao-anti-envelhecimento-e-um-antioxidante-para-os-desportistas/>. Acesso em: 03 junho 2018.

SALVADOR, Natalia. **O que são os radicais livres? Saiba como eles agri-dem a pele e as formas de neutralizá-los com antioxidantes**. 04 novembro 2015. [s.l.]. Disponível em: [https://www.dermaclub.com.br/noticia/o-que-sao-radicais-livres-saiba-como-eles-agridem-a-pele-e-as-formas-para-neutraliza-los-com-antioxidantes\\_a674/1](https://www.dermaclub.com.br/noticia/o-que-sao-radicais-livres-saiba-como-eles-agridem-a-pele-e-as-formas-para-neutraliza-los-com-antioxidantes_a674/1). Acesso em: 23 maio 2018.

SEREJO, Malanny. **Benefícios do Selênio no Organismo**. 04 abril 2017. [s.l.]. Disponível em: <https://todaperfeita.com.br/beneficios-do-selenio-no-organismo/>. Acesso em: 24 outubro 2018

SILVA, Candida. **Fumar faz mal a pele: Quais são os efeitos do tabagismo na qualidade do rosto**. 24 outubro 2017. [s.l.]. Disponível em: [https://www.dermacub.com.br/noticia/fumar-faz-mal-a-pele-quais-sao-os-efeitos-do-tabagismo-na-qualidade-do-rosto\\_a5627/1](https://www.dermacub.com.br/noticia/fumar-faz-mal-a-pele-quais-sao-os-efeitos-do-tabagismo-na-qualidade-do-rosto_a5627/1). Acesso em: 23 maio 2018.

## PLANTAS MEDICINAIS COM POTENCIAL LEISHMANICIDA NA AMAZÔNIA

### **Arnold Patrick de Mesquita Maia**

Universidade da Amazônia – UNAMA  
Belém – PA

### **Beatriz dos Reis Marcelino**

Universidade do Estado do Pará – UEPA  
Belém – PA

### **Daniely Alves Almada**

Universidade Nove de Julho - UNINOVE  
São Bernardo do Campo - SP

### **Tainá Soares Martins**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém - PA

### **Taís Amaral Pires dos Santos**

Universidade Federal do Pará – UFPA  
Belém – PA

### **Josiane do Socorro Vieira**

Secretaria Municipal da Saúde - SESMA  
Belém - PA

### **Sebastião Ribeiro Xavier Júnior**

EMBRAPA Amazônia Oriental  
Belém – PA

### **Silvane Tavares Rodrigues**

EMBRAPA Amazônia Oriental  
Belém – PA

devido a baixos investimentos em pesquisas laboratoriais e tratamento para a população menos favorecida. Assim, uma das alternativas utilizadas pelas populações é o uso de plantas medicinais em tratamentos. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo realizar o levantamento de plantas medicinais amazônicas utilizadas no tratamento contra a leishmaniose. Foi realizado um levantamento bibliográfico, na base de dados Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), além de sites como Google Acadêmico e Scielo (Scientific Electronic Library Online) utilizando as seguintes palavras chave: Amazonian plant, Anti-Leishmania, extrato vegetal Leishmania, Leishmania amazonenses, plant and Leishmaniasis. Em seguida, as espécies encontradas foram inseridas em uma planilha Excel (2010), organizadas em: Família, Espécie, Nome Popular e Parte Utilizada. Para atualização dos nomes científicos utilizou-se sites específicos como: W3 Trópicos e Flora do Brasil, 2020. A pesquisa mostrou 34 espécies medicinais distribuídas em: 17 famílias e 28 gêneros. Leguminosae (11) destacou-se em quantidade de espécies, em seguida Crassulaceae e Piperaceae com duas espécies. O gênero de maior representatividade foi *Copaífera* L. com (8 espécies). A parte mais utilizada das plantas foram as folhas e entrecascas. Essa pesquisa mostra que há uma

**RESUMO:** Leishmaniose é uma doença altamente difundida pelo mundo, ocorrendo da Ásia até as Américas, esta doença por sua vez, está na lista de doenças negligenciadas

necessidade de estudos em relação às espécies que têm propriedades leishmanicidas, uma vez que as plantas medicinais possuem uma profunda importância no que se refere aos tratamentos fitoterápicos de diversas doenças.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leishmaniose. Levantamento. Protozoário.

## MEDICINAL PLANTS WITH LEISHMANICIDAL POTENTIAL IN AMAZONIA

**ABSTRACT:** Leishmaniasis is a highly widespread disease in the world, occurring from Asia to the Americas, this disease in turn is on the list of neglected diseases due to low investment in laboratory research and treatment for the disadvantaged population. Thus, one of the alternatives used by the populations is the use of medicinal plants in treatments. In this sense, this study aimed to carry out a survey of Amazonian medicinal plants used in the treatment against leishmaniasis. A bibliographic survey was carried out in the Latin American and Caribbean Health Sciences Literature database (LILACS), in addition to sites such as Google Academic and Scielo (Scientific Electronic Library Online) using the following key words: Amazonian plant, Anti-Leishmania, plant extract Leishmania, Leishmania Amazonian, plant and Leishmaniasis. Then, the species found were inserted into an Excel spreadsheet (2010), organized in: Family, Species, Popular Name and Part Used. To update the scientific names, specific sites were used, such as: W3 Tropics and Flora do Brasil, 2020. The research showed 34 medicinal species distributed in: 17 families and 28 genera. Leguminosae (11) stood out in number of species, then Crassulaceae and Piperaceae with two species. The most representative genus was *Copaífera* L. com (8 species). The most used part of the plants were the leaves and bark. This research shows that there is a need for studies in relation to species that have leishmanicidal properties, since medicinal plants have a profound importance in relation to phytotherapeutic treatments of various diseases.

**KEYWORDS:** Leishmaniasis. Survey. Protozoan.

## 1 | INTRODUÇÃO

Leishmaniose é uma doença altamente infecciosa, não contagiosa, causada por parasitas do gênero *Leishmania* (Imagem 1 e 2). Esta, por sua vez é considerada uma antroponose, doença que acomete animais (mamíferos silvestres e domésticos) e eventualmente o homem. Nos reservatórios silvestres a infecção tende a ser benigna, tendendo para o equilíbrio da relação parasito-hospedeiro, sendo que muitas vezes a infecção é inaparente (FIOCRUZ, 1997).

Esta doença constitui um grave problema de saúde pública devido ao baixo investimento em pesquisas laboratoriais. Em 2010 estudos indicavam que 14 milhões de casos em 98 países, dos quais 79 são considerados em desenvolvimento e, aproximadamente, 350 a 400 milhões de pessoas estejam em risco de sofrerem infecção pelos parasitas (ALVAR, YACTAYO e BERN, 2006; WHO 2010).

Segundo BRASIL (2017), no país, já foram identificadas sete espécies, sendo

seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*. As três principais espécies são: *L. (V.) braziliensis*, *L.(V.) guyanensis* e *L.(L.) amazonensis* e, mais recentemente, as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi* foram identificadas em estados das regiões Norte e Nordeste.

As principais espécies vetoras ocorrentes no Brasil envolvidas na transmissão da leishmaniose são: *Lutzomyia flaviscutellata*, *Lu. whitmani*, *Lu. umbratilis*, *Lu. intermedia*, *Lu. wellcomei* e *Lu. Migonei* (BRASIL, 2017).

Por sua vez as fêmeas do flebotomíneo (Imagem 3) do gênero *Lutzomyia* são os únicos vetores naturais comprovados das espécies de *Leishmania* (BATES et al., 2015). Os parasitos de *Leishmania* são transmitidos pela picada de flebotomíneos infectados e 98 espécies dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* (STEVERDING, 2017). A FIOCRUZ (1997) descreve

O ciclo de contaminação do vetor (Imagem 3) ocorre pelo flebótomo que ao picar um indivíduo infectado ou um hospedeiro reservatório, o mesmo aspira macrófagos parasitados ou amastigotas livres no sangue e até mesmo em tecidos. As amastigotas, ao atingirem o intestino médio do inseto, se transformam em promastigotas. Estas formas flagelas, após rápida multiplicação, se convertem nos promastigotas infectantes e migratórios. Do intestino anterior são regurgitadas ou introduzidas na pele do próximo hospedeiro quando o inseto toma uma nova refeição de sangue.

Esta doença, pode durar alguns meses ou até ultrapassar o período de um ano (WERNECK, 2014). Basicamente, as leishmanioses podem se apresentar em duas formas clínicas: Leishmaniose Tegumentar (LT) e Leishmaniose Visceral (LV), que atinge os órgãos internos (ALVES et al., 2013; BRASIL, 2014; WHO, 2010).

A leishmaniose tegumentar (Imagem 5), trata-se de uma doença que acompanha o ser humano desde tempos remotos e que tem apresentado aumento do número de casos e ampliação de sua ocorrência nos últimos 20 anos, sendo encontrada atualmente em todos os estados brasileiros, sob diferentes perfis epidemiológicos (BASANO; CAMARGO, 2004).

Já a Leishmaniose Visceral (Imagem 6) é considerada uma doença negligenciada associada à pobreza. Atinge pessoas no mundo todo, principalmente na África, Ásia e América Latina, com ocorrência de até 400 mil novos casos por ano. Dentre os acometidos, cerca de 59.000 evoluem para o óbito, o que torna a LV a segunda doença mais grave, causada por protozoário, número menor somente aqueles apresentados pela malária. Em razão das mortes prematuras, horas de trabalho perdidas, gastos com tratamentos, dentre outros efeitos deletérios causados por essa enfermidade sobre uma população, a Organização Mundial da Saúde (OMS) coloca a LV como a 9ª doença infecciosa mais importante do mundo (DESJEUX, 2004; WHO, 2010).

Devido ao número crescente e a alta taxa de mortalidade nesses últimos anos, faz-se necessário novos estudos que auxiliem no tratamento desta doença.

Pesquisas com plantas medicinais, constituem fontes valiosas de novos fármacos, sendo responsáveis direta ou indiretamente por 63% das novas moléculas aprovadas como agentes terapêuticos (NEWMAN; CRAGG, 2012).

A utilização de plantas medicinais, para tratamento de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade e o conhecimento sobre as mesmas representa muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (MACIEL et al., 2002).

Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas desde feiras livres e até mesmo encontradas em quintais de muitas residências. Na região Amazônica foram catalogadas 260 plantas com fins medicinais (MACIEL et al., 2002).

Nesse sentido, levando em consideração o crescente caso de leishmaniose que limitam a produtividade econômica e dificultam a possibilidade de integração social normal e, associado à classificação da OMS como uma doença tropical negligenciada de baixo investimento em pesquisa e tratamento e voltada à população menos favorecida, esse trabalho tem por objetivo realizar o levantamento de plantas medicinais amazônicas com propriedades leishmanicida afim de contribuir para pesquisas relacionado à doença.

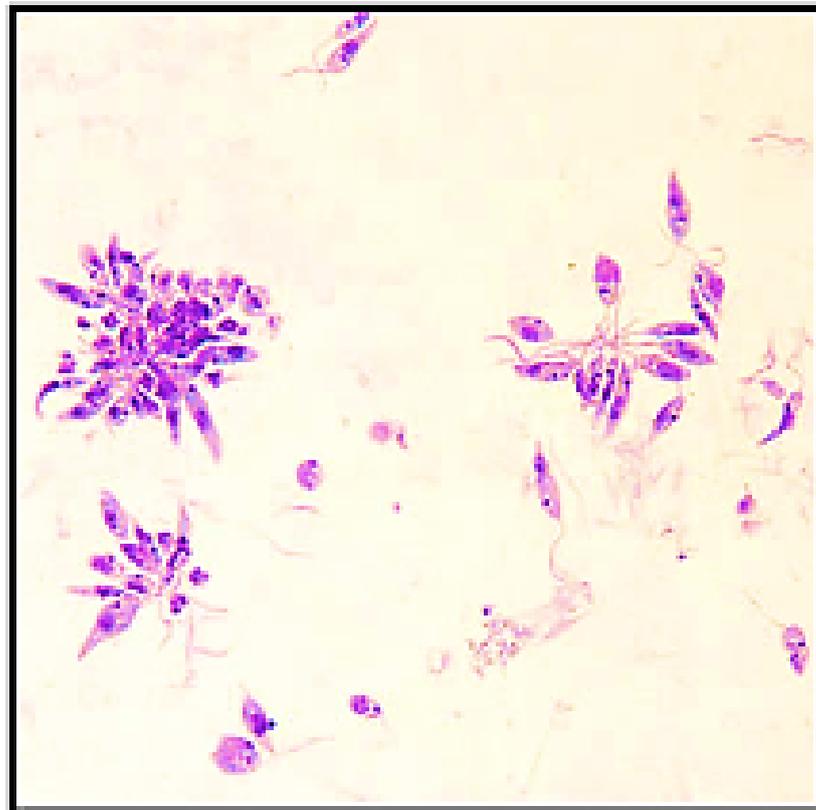


Imagem 1: Forma promastigotas do parasito do gênero *Leishmania*.

Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2017.

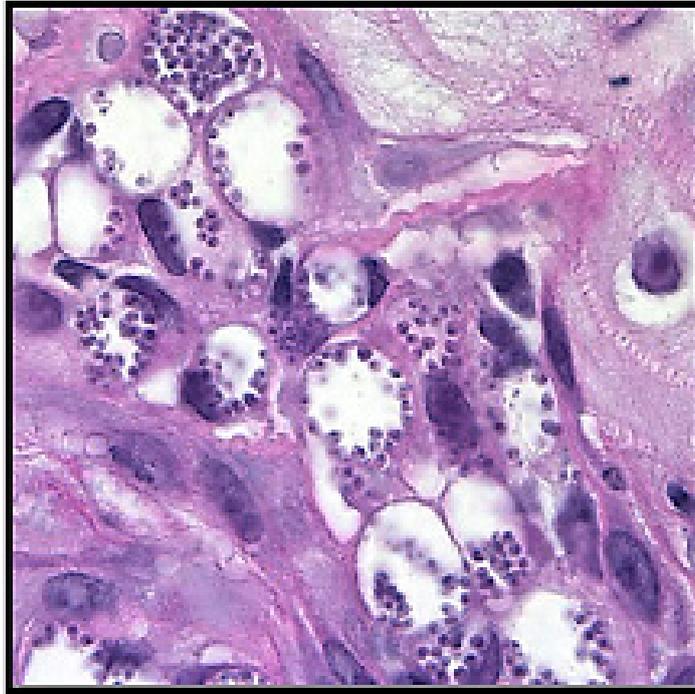


Imagem 2: Amastigotas de *Leishmania* sp. em um espécime de biópsia de uma lesão de pele, corado com hematoxilina e eosina (H & E).

Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2017.



Imagem 3: Flebotomíneo (fêmea) do gênero *Lutzomyia* engurgitado.

Fonte: Wilson, S., 2009.

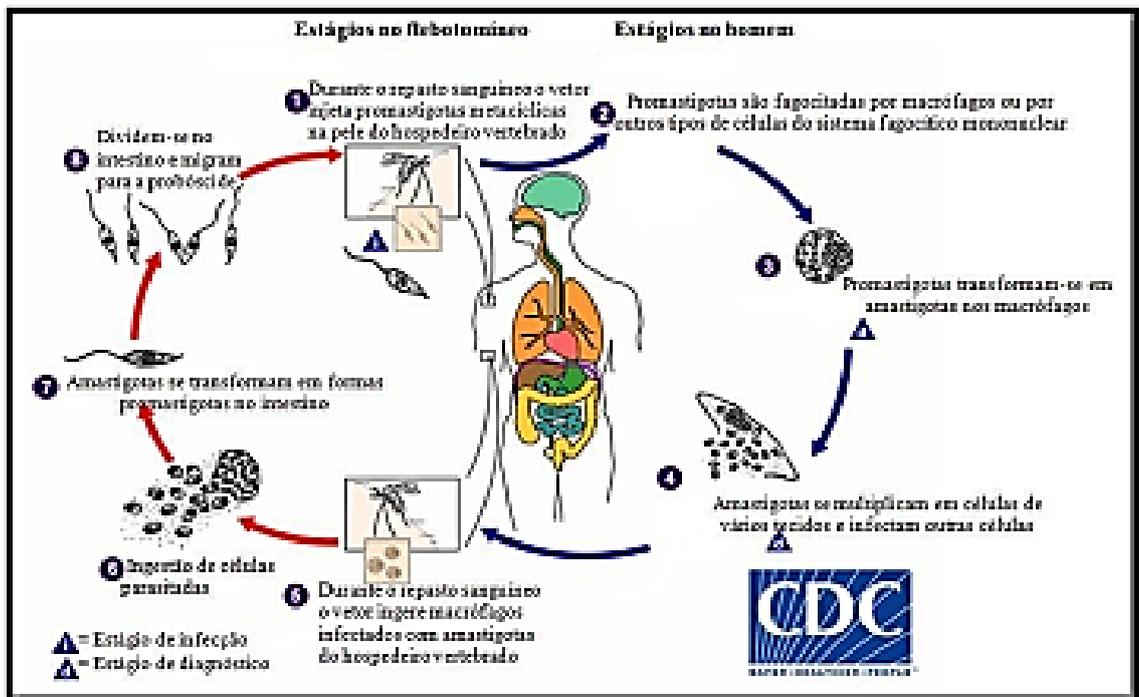


Imagem 4: Ciclo biológico da leishmaniose.

Fonte: adaptado de Centers for Disease Control and Preventions (CDC), 2017.



Imagem 5: Leishmaniose tegumentar americana. Lesão ulcerada franca, única, arredondada, com bordas elevadas, infiltradas e fundo granuloso.

Fonte: BRASIL, 2006.



Imagem 6: fase aguda da leishmaniose visceral, apresentando visível hepatoesplenomegalia, como demonstrado na demarcação.

Fonte: BRASIL, 2006.

## 2 | METODOLOGIA

Foi realizado um levantamento bibliográfico, na base de dados Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Google Acadêmico e Scielo (Scientific Electronic Library Online) utilizando as seguintes palavras chave: amazonian plant, Anti-Leishmania, amazon, plant, extrato vegetal leishmania, Leishmania amazonenses, Leishmania, plant, Leishmanicida, Leishmania flora brasileira, plant e Leishmaniasis.

Os períodos de publicação dos artigos não foram utilizados como critério para a seleção. A coleta de dados foi realizada no período de 2017 a 2019. Após a análise dos artigos a partir dos dados obtidos, foi elaborado uma planilha em Excel (2010) contendo as seguintes informações: Família, gênero, espécie, nome popular e parte utilizada de cada espécie medicinal.

Para confirmação dos dados de cada planta como grafia correta de nomes científicos, foi verificada e corrigida quando necessário por meio dos sites: Angiosperm Phylogeny Website (Imagem 7), Flora do Brasil e W3 Trópicos.

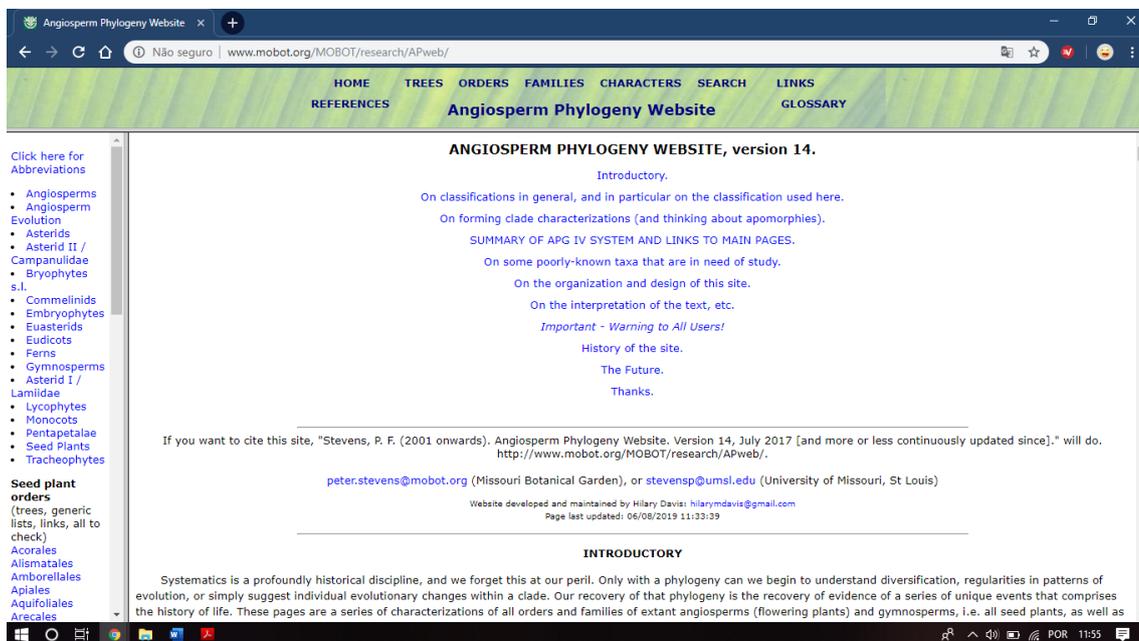


Imagem 7: Página inicial do site “Angiosperm Phylogeny Website”

Fonte: Stevens, P. F. 2017.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa sobre o potencial Leishmanicida de plantas da Amazônia Brasileira mostrou 34 espécies medicinais distribuídas em: 17 famílias e 28 gêneros. Leguminosae (11) destacou-se em quantidade de espécies, em seguida Crassulaceae e Piperaceae com duas espécies. O gênero de maior representatividade foi *Copaífera* L. com (8 espécies). A parte mais utilizada das plantas foram as folhas e entrecasas (Tabela 1).

Nas literaturas encontradas, existem pesquisas que comprovam o combate desta doença, como mostra o trabalho de Bezerra et al. (2006) que avaliaram o efeito da espécie *Vochysia haenkeana* Mart. em que sua parte mais utilizada foi a entrecasca e extrato do vegetal, obtendo resultado eficiente em suas análises.

O extrato etanólico de *Annona squamosa* apresentou atividade contra *Leishmania infantum* e *L. brasiliensis*, sendo o percentual de mortalidade de 66,59 e 55,40%, respectivamente, de acordo com Figuêiredo et al. (2016). Os extratos das folhas de *Mikania glomerata* apresentaram inibição do crescimento de 97,5% contra as formas amastigotas (LUIZE, 2005)

O gênero *Copaífera* por sua vez apresenta 8 espécies com atividade leishmanicida, que, de acordo com o estudo de Santos et al. (2008) a espécie *C. reticulata* possui maior potencial em comparação às demais: *C. martii*, *C. cearenses*, *C. paupera*, *C. langsdorfii*, *C. officinalis*, *C. multijuga*, *C. lucens* respectivamente. Moraes (2016) aponta que as nanoemulsões de copaíba e de andiroba apresentam ação leishmanicida em promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum* e ainda resultaram em retardo na evolução do tamanho das lesões em camundongos

infectados com *L. amazonensis*.

Outras pesquisas demonstraram eficiências em outras espécies citadas neste trabalho, como por exemplo, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers e *Plathymenia reticulata* Benth. que vem sendo comprovada sua atividade imunomoduladora, antiinflamatória (IBRAHIM et al., 2002), além de uma ação Leishmanicida potencialmente útil contra Leishmaniose cutânea (BERGMAN et al., 1992).

O potencial leishmanicida do extrato de n-hexano de galhos de *N. leucantha* foram avaliados contra a promastigota e formas amastigotas de *L. (L.) infantum* e na concentração de 300 µg/mL houve morte de 100% dos parasitos (GRECCO et al., 2018).

O óleo essencial de *Siparuna guianensis* Aubl. apresenta um bom desempenho quanto o potencial Leishmanicida *in vitro* impedindo o crescimento do parasita, sendo assim, uma nova alternativa terapêutica (LIMA et al., 2018). Okpecon (2004) estudou a espécie *Renealmia alpinia* (Rottb.), que apesar de possuir muitas utilidades, os extratos das folhas demonstraram ser eficazes em *Plasmodium falciparum*, *Trypanossoma brucei* e principalmente *Leishmania donovani*.

Assim como há espécies que tiveram um resultado satisfatório há outras espécies que necessitam de estudos mais aprofundados. A planta *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl por exemplo, apresenta-se como uma terapia para a Leishmaniose. Segundo Moreira (2007) esta espécie tem sido empregada no combate à úlcera causada pela doença, porém em uma de suas análises a espécie apresentou poucos resultados eficientes no combate à doença, além de apresentar maior eficiência contra *L. brasiliensis* que para *L. amazonensis*. Bezerra et al., (2006) também constataram em seus estudos o extrato aquoso das folhas de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. que foram avaliados em promastigotas, entretanto os resultados de suas análises tiveram um baixo efeito leishmanicida para a espécie.

As demais espécies: *Passiflora edullis* Sims., *Syzygium cumini* (L.) Skeels, *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants, *Piper regnellii* (Miq.) C.DC, *Zanthoxylum caribaeum* subsp. *rugosum* (A.St. Hil. & Tul.) Reynel, *Lacistema pubescens*, *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen Mart. e a *Ocimum gratissimum* L. possuem uma elevada eficiência ao combate à doença. Apesar disso, se faz necessário mais estudos que comprovem a eficácia das mesmas.

Família	Espécie	Nome Vernacular	Parte Utilizada
Amaranthaceae	<i>Pfaffia glomerata</i> (Spreng.) Pedersen	Canela Velha	Raiz
<b>Annonaceae</b>	<i>Annona squamosa</i> L.	Fruta do Conde	Folha
<b>Asteraceae</b>	<i>Mikania glomerata</i> Spreng.	Guaco	Folha
<b>Crassulaceae</b>	<i>Kalanchoe pinnata</i> (Lam.) Pers	Folha da Fortuna	Folha
<b>Lacistemataceae</b>	<i>Lacistema pubescens</i> Mart.	Vermelhinho	Folha
<b>Lamiaceae</b>	<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Alfavacão	Folha
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Campsiandra comosa</i>	Capurana	Casca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Barbatimão	Casca/caule/ Folhas
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Plathymenia reticulata</i> Benth.	Pau amarelo	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Copaifera cearensis</i> Huber ex Ducke	Copaíba	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Copaíba	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Copaifera lucens</i> Dwyer	Copaíba	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Copaifera martii</i> Hayne	Copaíba	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Copaifera multijuga</i> Hayne	Copaíba	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Copaifera officinalis</i> (Jacq.) L.	Copaíba	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer	Copaíba	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Copaifera reticulata</i> Ducke	Copaíba	Entrecasca
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Galactia glaucescens</i> Kunth	Galactia	Folhas
<b>Leguminosae/Fabaceae</b>	<i>Tephrosia cinerea</i> (L.) Pers.	Anil de bode	Folhas
<b>Laureaceae</b>	<i>Nectandra leucantha</i> Ness.	Canela Branca	Casca
<b>Meliaceae</b>	<i>Carapa guianensis</i> Abl.	Andiroba	Sementes
<b>Myrtaceae</b>	<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	Ameixa-roxa	Folhas
<b>Passifloraceae</b>	<i>Passiflora edulis</i> Sims	Maracujá	Folhas
<b>Piperaceae</b>	<i>Piper regnellii</i> (Miq.) C.DC	Pariparoba	Folhas
<b>Rutaceae</b>	<i>Zanthoxylum caribaeum</i> subsp. <i>rugosum</i> (A.St.-Hil. & Tul.) Reynel	Mamiqueira-fedorenta	Entrecasca
<b>Siparunaceae</b>	<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.	Limão-bravo	Folhas
<b>Verbenaceae</b>	<i>Stachytarpheta cayennensis</i> (Rich.) Vahl	Rincão	Folhas
<b>Vochysiaceae</b>	<i>Vochysia haenkeana</i> Mart.	Pau mulato	Entrecasca
<b>Zingiberaceae</b>	<i>Renealmia alpinia</i> (Rottb.) Maas	Alpínia	Folhas
<b>Crassulaceae</b>	<i>Bryophyllum Pinnatum</i> (Lam.) Oken	Courama	Folha
<b>Araceae</b>	<i>Colocasia antiquorum</i> L.	Taja	Tubérculo
<b>Lecythidaceae</b>	<i>Cariniana rubra</i> Gardner ex Miers	Jequitiba	Casca
<b>Musaceae</b>	<i>Musa paradisiaca</i> L.	Banana	Casca da Fruta
<b>Piperaceae</b>	<i>Piper</i> sp.	-	Folha

Tabela 1: Espécies utilizadas no tratamento de Leishmaniose.

Fonte: Autores, 2019.

## 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por ser uma doença de distribuição ecumênica e caráter negligenciado com elevada incidência e prevalência no Brasil, afetando principalmente as localidades rurais e menos favorecidas social e economicamente, essa pesquisa conclui que há

uma necessidade de estudos em relação aos vegetais que possuem propriedade leishmanicida, uma vez que, as plantas medicinais possuem uma profunda importância relacionada ao tratamento, seja para adequar a recomendação do extrato vegetal como remédios caseiros, proporcionar estudos para o embasamento de uso e desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos e também para a descoberta de novos princípios ativos que possam vir a ser isolados para a formulação de novos medicamentos alopáticos que possam ser utilizados no tratamento da doença.

## REFERÊNCIAS

- ALVAR, J.; YACT AYO, S., BERN, C. **Leishmaniasis and poverty. Trend in Parasitology**, Elsevier. v. 22, p.552-557. USA. 2006. ISSN 1471-4922.
- ALVES, C.F.; ALVES, C.F.; FIGUEIREDO, M.M.F.; SOUZA, C.C.; MACHADO-COELHO, G.L.L.; MELO, M.N.; TAFURI, W.L.; RASO, P.; SOARES, R.P.; TAFURI, W.L. **American tegumentary leishmaniasis: Effectiveness of an immunohistochemical protocol for the detection of *Leishmania* in skin.** *PLoS ONE* 8(5): e63343. San Francisco. 2013.
- BASANO, S. de A.; CAMARGO, L. M. A. **Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle.** *Rev bras epidemiol*, p. 328-337, 2004.
- BATES, P. A.; DEPAQUIT, J.; GALATI, E. A. B.; KAMHAWI, S.; MAROLI, M.; MACDOWELL, M. A.; PICADO, A.; READY, P. D.; SALOMÓN, O. D.; SHAW, J. J.; TRAUB- CSEKO, Y. M.; WARBURG, A. **Avanços recentes na pesquisa de flebotômíneos relacionados ao controle da leishmaniose.** *Parasites & Vectors*, v. 8, n. 131, 2015.
- Bezerra, J. L.; COSTA, G.C.; LOPES, T. C.; CARVALHO, I. C.D.S.; PATRÍCIO, F.J.; SOUSA, S. M.; AMARAL, F. M. M.; REBELO, J. M. M.; GUERRA, R. N. M.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F. **Evaluation of the in vitro leishmanicidal activity of medicinal plants.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, p. 631-637, 2006.
- BRASIL 2014. Ministério da Saúde. **Dados de situação epidemiológica - casos LV.**
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 189 p.
- BRILHANTE, A.F.; MELCHIOR, L. A. K.; NUNES, V. L. B.; CARDOSO, C. DE O.; GALATI, E. A. B. **Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis (ACL) in an endemic area of forest extractivist culture in western Brazilian Amazonia.** *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo*, v. 59, n. 12, p.1-9, fev. 2017.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTIONS (CDC). *Saúde Global. Divisão de Doenças Parasitárias. Leishmaniose.* Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/index.html>. Acesso em 21 jun. 2019.
- DESJEUX, P. **Leishmaniasis: current situation and new perspectives.** Elsevier. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 27, p.305-318. USA. 2004.
- FIGUEIREDO, S. D. N de; DELMONDES, F. R. de A.; CRUZ, G. P. da; NASCIMENTO, L. A. do; TINTINO, E. R.; LEMOS, S. S.; CUNHA, I. C. B. da; GOMEZ, F. A. V.; CORONEL, M. C. COSTA, C. M. da; COUTINHO, J. G. M.; FELIPE, H. D. B. MENEZES, C. F. A. de; KERNTOPF, I. R.; REGINA, M.

**Avaliação da atividade anti-Leishmania e anti- trypanosoma do extrato etanólico das folhas de *Annona squamosa* L.** Acta Toxicol. Argent. (2016) 24 (3): 173-179.

FIOCRUZ. **As Leishmanioses.** Laboratório de Imunomodulação – Departamento de Protozoologia/ IOC; 1997. Disponível em: [http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/vacina\\_\\_o.htm](http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/vacina__o.htm). acesso em: 12 jun 2019.

**Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em 20 jun. 2019.

GRECCO, S. S.; SILVA, T. A. C.; SOUSA, F.S.; CARGNELUTTI, S. B.; UMEHARA, E.; MENDONÇA, P. S.; TEMPONE, A. G.; LAGO, J. H. G. **Neolignans isolated from twigs of *Nectandra leucantha* Ness & Mart (Lauraceae) displayed in vitro antileishmanial activity.** Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases (2018) 24:27. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40409-018-0164-9>

LIMA, A. P. L. **Atividade leishmanicida do óleo essencial de *siparuna guianensis* e do  $\alpha$ -bisabolol isolado de *siparuna guianensis* contra leishmania amazonenses.** Dissertação. Programa de Pós-Graduação de Ciências Aplicadas a Saúde da Universidade Federal de Goiás – Regional Jataí, 2018.

Patrícia Shima Luize; Tatiana Shioji Tiunan; Luis Gustavo Morello; Paloma Korehiza Maza; Tânia Ueda-Nakamura; Benedito Prado Dias Filho; Diógenes Aparício Garcia Cortez; João Carlos Palazzo de Mello; Celso Vataru Nakamura. **Efeitos de extratos de plantas medicinais no crescimento de *Leishmania (L.) amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*.** Rev.Bras. Cienc. Fazenda. vol.41 no.1 São Paulo Jan./Mar. 2005.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA Jr, V. F.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N. F. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.** *Química nova*, 25 (3), p. 429-438, 2002.

MORAES, A. R. D. P. de. **Avaliação da combinação da oxigenação hiperbárica com óleos de *Copaifera sp* e *Carapa guianensis* no tratamento da leishmaniose experimental.** Universidade Estadual de Campinas – Instituto de Biologia, Campinas, 2016.

MOREIRA, R. C. R.; COSTA, G. C.; LOPES, T. C.; BEZERRA, J. L.; GUERRA, R. N. M.; REBÊLO, J. M. M.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F.; COSTA, J. M. L. **Efeito leishmanicida in vitro de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl (Verbenaceae).** Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn. 17(1): Jan./Mar. 2007

NAKAMURA, C. V.; SANTOS, A. O.; VENDRAMETTO, M. C.; LUIZE, P. S.; FILHO, B. P. D.; CORTEZ, D. A G.; UEDA-NAKAMURA, T. **Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck.** Rev Bras Farmacogn, v. 16, n. 1, p. 61-66, 2006.

NEWMAN, D.J. e CRAGG, G.M. **Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010.** ACS Publications. *Journal of Natural Products*, v. 75, p. 311–338. Washington. 2012.

OKPEKON, T.; YOULOU, S.; GLEYE, C.; ROBLOT, F.; LOISEAU, P. M.; BORIES, C.; GRELLIER, P.; FRAPPIER, F.; LAURENS, F. A.; HOCQUEMILLER, R. **Antiparasitic activities of medicinal plants used in Ivory Coast.** *Journal of ethnopharmacology*, v. 90, n. 1, p. 91-97, 2004. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas:** Washington: Organização Pan-Americana da Saúde; 2018. Disponível em: <[www.paho.org/leishmaniasis](http://www.paho.org/leishmaniasis)>. Acesso em 12 jun 2019.

SANTOS, A. O.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; VEIGA Jr, V. F.; PINTO, A. C.; NAKAMURA, C. V. **Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*.** Elsevier. Journal of Ethnopharmacology, v.120, n.2, p. 204-208.USA. 2008. ISSN 1872-7573.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since].” will do. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Access in 20 jun 2019.

STEVERDING, D. **The history of leishmaniasis**. *Parasites & Vectors* (2017) 10:82. DOI 10.1186/s13071-017-2028-5

UEDA-NAKAMURA T.; MENDONÇA FILHO, R.R.; MORGADO-DÍAZ, J. A.; KOREHISA, M. P.; DIAS FILHO B. P.; CORTEZ, D. A. G.; ALVIANO, D.S.; ROSA M. do S.; LOPES A. H.; ALVIANO, C.S.; NAKAMURA, C.V. **Antileishmanial activity of Eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*** *Parasitology International* 55 (2006) 99– 105

WHO. **Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis**. In: WHO Technical Report Series, Organization, W.H., p. 201. Editora World Health Organization. 2010.

WILSON, S. **PLoS Pathogens Issue Image I** Vol. 5 (8) Agosto de 2009. *PLoS Pathog* 5 (8): ev05.i08. <https://doi.org/10.1371/image.ppat.v05.i08>

## REABILITAÇÃO NEUROMOTORA PARA O PACIENTE COM TRAUMA RAQUIMEDULAR - SÍNDROME DE BROWN SÉQUARD

### **Diana Marrocos de Oliveira**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Natália Ramalho Figueredo**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Camila Ferreira Alves**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Priscila Andrade da Costa**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Sting Ray Gouveia Moura**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Patrícia Cordeiro Oliveira**

Centro Universitário Metropolitana de Marabá-  
Pitágoras  
Marabá - Pará

### **Rodrigo Canto Moreira**

Faculdade Pan-amazônica – Faculdade Paraense  
de Ensino  
Belém – Pará

caracteriza pela interrupção traumática, parcial ou total, de um dos segmentos da medula vertebral. Uma hemisseção medular gera sintomas atípicos, levando o paciente ao quadro conhecido como Síndrome Brown Séquard caracterizado por perda motora ipsilateral e déficit sensitivo do lado contralateral à lesão. Por tanto, este estudo tem como objetivo observar os benefícios da fisioterapia no ganho de função da marcha e sensibilidade de um paciente com diagnóstico de trauma raquimedular com manifestação clínica dessa síndrome. O presente estudo é um relato de caso descritivo, qualitativo, observacional, de caráter local, sem intervenção, com análise documental. A amostra corresponde a um sujeito do sexo masculino, 22 anos, vítima de acidente motocilístico que gerou lesão traumática na medula espinhal a nível T4, T5 e T6, com queixa principal de parestesia em membro inferior direito, algia em membro inferior esquerdo e coluna torácica, e marcha do tipo escarvante. A evolução do paciente foi mensurada frente análise comparatória entre os dados inseridos no prontuário, atualizadas a cada sessão. Enfatizou-se a evolução da sensibilidade, classificada através do mapa de dermatômos, e a função da marcha, avaliada através da inspeção durante a deambulação, com registro na ficha de evolução. Ao final, o paciente apresentou ganhos de força muscular (Escala Kendall- grau 4), sensibilidade tátil a

**RESUMO:** O traumatismo raquimedular se

nível de L3-L4 e execução da marcha que é realizada com contração mais efetiva do músculo tibial anterior para a descarga de peso em calcanhar. Logo, a fisioterapia foi determinante para o ganho funcional do paciente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Trauma; Medula Espinhal; Síndrome Brown Séquard; Fisioterapia.

## NEUROMOTOR REHABILITATION FOR PATIENT WITH RAQUIMEDULAR

### TRAUMA - BROWN SEQUARD SYNDROME

**ABSTRACT:** Spinal cord injury is characterized by the partial or total traumatic interruption of one of segments by the spinal cord. A medullary hemisection generates atypical symptoms, leading the patient to condition known as Brown Séquard Syndrome, manifesting ipsilateral motor loss and sensory deficit in side contralateral to lesion. Therefore, this study aims to observe benefits of physiotherapy in gait function gain and sensitivity of a patient with a spinal cord trauma with clinical manifestation of this syndrome. The present study is an account of descriptive, qualitative, observational, local, without intervention, with documentary analysis of medical records. The sample comprised a male subject, 22 years old, a motorcycle accident victim who caused traumatic injury to the spinal cord at T4, T5 and T6 levels, with a major complaint of paresthesia in right lower limb, algia in left lower limb and thoracic spine, and scrambling type gait. The evolution of patient was measured against a comparative analysis between the data inserted in the medical record, updated at each session. It was emphasized the evolution of sensitivity, classified through map of dermatomes, and gait function, assessed through inspection during ambulation, with record in evolution chart. At the end, the patient presented gains of muscle strength (Kendall-grade 4 scale), tactile sensitivity at L3-L4 level and gait execution that is performed with more effective contraction of anterior tibial muscle for heel weight discharge, thus, physiotherapy was determinant for functional gain of the patient.

**KEYWORDS:** Trauma; Spinal cord; Brown Séquard syndrome; Physiotherapy

## 1 | INTRODUÇÃO

O Trauma raquimedular (TRM) é caracterizado por ser uma lesão traumática à coluna vertebral e à medula espinhal, interrompendo de forma parcial ou total o sinal neurológico que transita através desta, resultando em déficits motores e sensitivos, de acordo com o local atingindo na medula (GARCIA, 2015).

No interior da coluna vertebral, composta por 33 vértebras, está presente a medula espinhal. Dela emergem 31 pares de nervos espinhais com uma raiz sensitiva e uma motora cada, que se relacionam com dermatômos e miótomos, respectivamente. Os dermatômos mandam informações sensitivas da pele à medula, e a mesma envia respostas motoras aos miótomos correspondentes aos seus grupos

musculares. O limite cranial está localizado ao nível do forame magno, no osso occipital, imediatamente após o bulbo, enquanto que o limite caudal se localiza ao nível da segunda vértebra lombar (MACHADO, 2006).

Dessa forma, nem toda localização dos segmentos medulares são correspondentes aos níveis vertebrais. As primeiras raízes nervosas, correspondentes as cervicais, são mais horizontais ao sair dos forames intervertebrais. Enquanto que o restante dos nervos espinhais percorrem uma direção vertical antes de sair, ou seja, os níveis onde se originam as raízes nervosas não corresponderem, ao nível vertebral (MACHADO, 2006).

A classificação do comprometimento causado pelo trauma raquimedular pode ser feita a partir do nível neurológico da lesão, que corresponde ao segmento medular atingido. A extensão da lesão também pode ser ferramenta de classificação, sendo denominada de lesão completa quando há separação total da medula na região lesionada, ocasionando ausência de função motora e sensorial abaixo do nível de lesão, ou incompleta quando ainda resta conexão axonal na região, o que gera perda motora e sensitiva parcial (O'SULLIVAN; SCHMITZ, 2010).

Em lesões incompletas há subtipos de manifestações clínicas, que são síndromes classificadas de acordo com a porção da medula espinhal atingida. Dentre elas temos a síndrome anterior da medula espinhal, a síndrome de Brown Séquard, a síndrome centro medular e a síndrome posterior da medula espinhal (O'SULLIVAN; SCHMITZ, 2010).

A Síndrome Brown Séquard é uma das manifestações clínicas mais desafiadoras do trauma raquimedular. Sua ocorrência é pouco comum e em seu tratamento são utilizados recursos terapêuticos diversificados. Ela é resultante de uma hemiseccção da medula espinhal que ocasiona perda motora ipisilateral devida ao rompimento das fibras do tracto corticoespinhal lateral e déficit sensitivo do lado contralateral à lesão, por rompimento do tracto espinotalâmico lateral (DE SOUSA GOMES, 2018).

Devido à relevância do tema e a complexidade de casos oriundos da hemiseccção da coluna vertebral, o presente trabalho objetiva identificar os benefícios da fisioterapia no ganho de função de marcha e sensibilidade de um paciente com manifestação clínica da Síndrome de Brown Séquard após trauma raquimedular, bem como apresentar o tratamento proposto para sintomatologias apresentadas.

## **2 | MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente trabalho é um relato de caso de caráter descritivo, qualitativo, observacional, de caráter local, sem intervenção, com análise documental de prontuário.

Quanto à intervenção junto ao paciente, vale ressaltar que não houve aplicação de procedimentos terapêuticos pelos pesquisadores e a observação foi o método

escolhido para obtenção de dados. Os procedimentos foram executados por uma fisioterapeuta durante 2 meses, com condutas regulares de fisioterapia em 3 vezes por semana, totalizando 24 sessões, sendo que cada uma delas teve duração de 1 hora na Clínica Escola anteriormente citada.

A amostra compreende a um sujeito do sexo masculino, 22 anos, vítima de acidente motociclístico com repercussão traumática na medula espinhal. O mesmo reside na cidade de Marabá, Estado do Pará. A lesão ocorreu a nível T4, T5 e T6, com queixa principal parestesia em membro inferior direito, algia em membro inferior esquerdo e coluna torácica. Além disso, manifesta incontinência urinária e espasticidade no membro inferior esquerdo, caracterizando a síndrome de Brown Séquard.

A evolução do tratamento de sensibilidade tátil foi observada através da avaliação feita pela terapeuta com auxílio do mapa de dermatomos e recursos de diagnóstico clínico, como agulha e pinça do martelo neurológico de aço inox da marca Buck. A função da marcha foi avaliada por avaliação da força, de acordo com a Escala Kendall e inspeção do paciente durante a atividade de deambulação, com registro na ficha de evolução de padrões pré e pós-terapêuticos.

Os procedimentos adotados junto ao paciente envolveram materiais e métodos como Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea (TENS), da marca ibramed; mecanoterapia com alongamento de membros inferiores em barras paralelas; prancha de equilíbrio revestida em madeira, faixa elástica da marca Carci; Caneleira de 1kg da marca Carci; massoterapia e termoterapia. A evolução do paciente foi mensurada frente análise comparativa entre os dados inseridos dia após dia no prontuário, atualizadas a cada sessão de reabilitação.

Após o tratamento proposto, os mesmos métodos de classificação de sensibilidade e marcha foram aplicados para que a evolução pudesse ser observada e relatada no prontuário do paciente e no presente estudo.

### **3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No primeiro dia de atendimento o paciente compareceu na clínica, pontualmente, sem acompanhante. A estagiária responsável avaliou o paciente em diversos aspectos, incluindo anamnese, exame físico neuro-funcional, teste de equilíbrio estático e dinâmico, teste de propriocepção, avaliação de amplitude de movimento, dentre outros tipos de métodos avaliativos não pertinentes ao objetivo da pesquisa.

Durante a avaliação inicial, o paciente relatou como queixa principal o formigamento em membro inferior direito (MID) e dor em membro inferior esquerdo (MIE) e em coluna torácica. Quanto à deambulação, a inspeção identificou uma aparente dificuldade, já que o paciente se valeu do uso de dispositivo auxiliar de marcha, a muleta canadense. Sem o dispositivo auxiliar, pode-se perceber que sua marcha era do tipo escavante, que tem como característica principal a dificuldade

de realizar a dorsiflexão de pé, com limitação para movimento de flexão de quadril em MIE.

O mapa de dermatômos, que de acordo com as “Diretrizes de Atenção à Pessoa com Lesão Medular” (2015), verifica a resposta sensitiva ao leve estímulo doloroso, foi aplicado objetivando avaliar o local mais distal da medula com função sensorial preservada (OLIVEIRA MAGALHÃES et al., 2011). Assim, observou-se que o nível de lesão ocasionou redução de sensibilidade a partir da região de inervação raquidiana de L2/L3.

A força do paciente em MIE apresentou grau 3, enquanto que o MID apresentou grau 5 de acordo com a Escala de Kendall, o que pode ser observado na tabela 1 juntamente com outros achados da avaliação que constavam em seu prontuário.

	<b>MEMBRO INFERIOR DIREITO</b>	<b>MEMBRO INFERIOR ESQUERDO</b>
<b>TÔNUS</b>	Normotônus	Hipertônus
<b>TROFISMO</b>	Normotrófico	Hipotrofismo
<b>GRAU DE FORÇA</b>	5	3
<b>SENSIBILIDADE</b>	Reduzida	Presente
<b>REFLEXO PATELAR</b>	Normal	Hiperreflexia
<b>REFLEXO AQUILEU</b>	Normal	Vivo

Tabela 1: Testes de sensibilidade palpação e percussão

Fonte: autor

A partir do segundo atendimento foi iniciado o programa de reabilitação com o paciente. Segundo Sartori e colaboradores (2009), uma reabilitação neurológica visa explorar as funções remanescentes, estimulando vias nervosas ainda intactas que visam proporcionar independência funcional para o mesmo. Para isso, existe uma gama de tratamentos fisioterapêuticos que podem ser utilizadas com o lesado medular.

A conduta fisioterapêutica constou de Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea (TENS) na modalidade breve e intenso, com parâmetro de 250us/150hz na região toraco-lombar; mecanoterapia com alongamento de membros inferiores em barras paralelas; prancha de equilíbrio por 30 segundos em 5 repetições; faixa elástica de cor azul - média forte para plantiflexão; extensão de joelho com caneleira de 1kg; cinesioterapia ativa livre em movimentos de flexão de quadril na posição de decúbito dorsal; técnica deslizamento e fricção em massoterapia; estimulação tátil com materiais de diversas texturas; estimulação térmica com tubo de ensaio contendo água aquecida, e gelo em cubos.

Segundo Monteiro e colaboradores (2006), através de alongamento global e mobilização articular é possível proporcionar boa flexibilidade dos músculos e aumentar a amplitude de movimento das articulações, que no paciente em questão a ênfase foi em MMII (membros inferiores). Além disso, para esta mesma região foi

proporcionada estimulação com algodão, agulha e tubo de ensaio com água quente e cubo de gelo.

O treinamento resistido, um dos componentes do programa de reabilitação em médio prazo, tem como meta proporcionar força à musculatura, condicionamento cardiovascular e melhora do desempenho na marcha, corroborando com a prática clínica de Neto, Gentil (2016). Estudos realizados por Bortolotti e Tsukamoto (2011) sobre fortalecimento muscular em membros superiores corroboram com a intervenção proposta, pois resultaram em aumento da independência funcional dos participantes, visto que referiram sensação de cansaço reduzida para execução de atividades cotidianas, o que facilitou a execução de suas tarefas. Nunciato e colaboradores (2009) realizaram um protocolo de treinamento de força durante 8 semanas e obtiveram melhora na qualidade da execução de transferências e no equilíbrio em um lesado medular a nível T11/T12.

Dessa forma, para finalidade de amplitude de movimento (ADM) e ganho de força, o atendimento contou com alongamento ativo-assistido de MMII, cinesioterapia ativa-livre e ativa resistida de leve intensidade em membros inferiores, sendo este último com auxílio de faixa elástica. Ao final dos exercícios foi realizada massoterapia para eliminação de pontos gatilhos ao redor da escápula para alívio da dor (Rodrigues et al., 2016).

Um dos principais objetivos do plano de tratamento a longo prazo foi à aquisição da marcha funcional e, para isso, foi garantido ao paciente uma boa ADM em fases anteriores do tratamento, bem como o alinhamento postural e resistência cardiovascular. O'Sullivan e Schimitz (2010) afirmam que esses mesmos procedimentos são pré-requisitos para o treino de marcha.

O fortalecimento de MMII foi executado na realização de exercícios funcionais com auxílio da caneleira de 0,5 kg para recrutar musculatura de quadril, joelho e tornozelo. O treino de equilíbrio em disco propioceptivo e o treino de marcha em barras paralelas complementaram os movimentos funcionais do atendimento, sendo aplicados com duração de 10 minutos, de acordo com o que preconiza a literatura (TEIXEIRA-SALMELA et al., 2016)

O paciente progrediu durante a terceira semana de tratamento, o que levou a utilização de caneleira com peso de 1kg nos tornozelos durante o percurso de treinamento da marcha, que gradualmente foi intensificado até que conseguisse manter-se em movimento por 20 minutos até o final das sessões propostas.

O estímulo tátil feito com agulha, algodão e tecido com textura em camurça foi mantido até o final do tratamento, para que a longo prazo a resposta sensitiva nos dermatômos pudesse ser adquirida gradualmente.

Ao final do tratamento, nas últimas sessões, o paciente já realizava treino de marcha e equilíbrio com duração de 30 minutos em barra paralela utilizando caneleira de 1kg. A sessão ainda contou com treino de equilíbrio na prancha de propiocepção, e para finalizar, realizou-se massoterapia em MMII para prevenção de eventuais

fadigas musculares.

É importante ressaltar que a incontinência urinária, sintoma apresentado pelo paciente, foi tratada por outro setor da clínica que se dedica à reabilitação em urologia.

#### 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A agressão à medula é uma condição neurológica que modifica abruptamente o estilo de vida do indivíduo acometido limitando-o na realização de atividades rotineiras e funcionais do seu dia-a-dia.

A reabilitação de um lesado medular não leva a cura, visto que é uma afecção que não permite irreversibilidade total do quadro patológico. Entretanto, com muita dedicação e paciência tanto do paciente quanto do terapeuta, o tratamento fisioterapêutico é responsável pela adaptação do paciente ao novo estilo de vida, sempre respeitando a limitação funcional do indivíduo.

O paciente tratado de acordo com o protocolo apresentado obteve ganhos de força muscular (Escala Kendall- grau 4), sensibilidade tátil a nível de L3-L4 e execução da marcha que já é realizada com contração mais efetiva de músculo tibial anterior para a descarga de peso em calcanhar. Logo, a marcha foi aperfeiçoada e a sensibilidade vem sendo reestabelecida gradativamente, através de estímulos táteis diversos.

Pode-se concluir que as técnicas convencionais de fisioterapia neurológica, com a utilização de texturas para ganho de sensibilidade tátil e eletroterapia para redução de do ciclo espasmódico da dor e exercícios resistidos controlados, são eficazes para o tratamento da Síndrome Brown Séquard, levando o paciente à maior independência funcional e melhor qualidade de vida.

#### REFERÊNCIAS

BORTOLLOTTI, Lígia Franciele; TSUKAMOTO, Heloísa Freiria. Efeitos do treinamento físico sobre a força muscular em paraplégicos. **Revista Neurocienc**, v. 19, n. 3, p. 462-471, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes de Atenção à Pessoa com Lesão Medular**. 2. ed – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

DE SOUSA GOMES, Rúbia Soares et al. Traumatismo raquimedular por projétil de arma de fogo, manifestando clinicamente com Síndrome de Brown Séquard. **Anais do Seminário Científico da FACIG**, n. 3, 2018.

GARCÍA, Santiago Moreno. Trauma raquimedular. **Morfologia**, v. 7, n. 1, 2015.

MACHADO, Angelo B.M. **Neuroanatomia funcional**. 2ª ed. – São Paulo: Editora Atheneu, 2006.

MONTEIRO, Wagner; SILVA, Fernanda Fregni da; FATARELLI, IF de C. Evolução clínica da marcha em um indivíduo com lesão medular incompleta: relato de caso. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 12, p. 31,

2006.

NETO, Frederico Ribeiro; GENTIL, Paulo. Treinamento resistido como intervenção na reabilitação em pacientes com lesão medular: uma revisão de literatura. **Acta Fisiátrica**, v. 18, n. 2, p. 91-96, 2016.

NUNCIATO, Ana Claudia et al. Treinamento de força e treinamento funcional em adolescente lesado medular–Relato de caso. **Conscientiae Saúde**, v. 8, n. 2, p. 281-288, 2009.

OLIVEIRA MAGALHÃES, Mauricio et al. Avaliação em pacientes com traumatismo raquimedular: um estudo descritivo e transversal. **ConScientiae Saúde**, v. 10, n. 1, 2011.

O’SULLIVAN, Susan B; SCHMITZ, Thomaz J. **Fisioterapia, Avaliação e Tratamento**. 5 ed. Manole, 2010.

RODRIGUES, Adriana Vieira et al. Estudo sobre as características da dor em pacientes com lesão medular. **Acta Fisiátrica**, v. 19, n. 3, p. 171-177, 2016.

SARTORI, Juliano et al. Reabilitação física na lesão traumática da medula espinhal: relato de caso. **Revista Neurocienc**, v. 17, n. 4, p. 364-70, 2009.

TEIXEIRA-SALMELA, Luci Fuscaldi et al. Fortalecimento muscular e condicionamento físico em hemiplégicos. **Acta Fisiátrica**, v. 7, n. 3, p. 108-118, 2016.

## TÉCNICAS DE CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DE INSETÁRIOS DE MOSQUITOS *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: CULICIDAE)

### **Fabiola da Cruz Nunes**

Universidade Federal da Paraíba, Centro de Biotecnologia, Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores, João Pessoa-PB

### **Louise Helena Guimarães de Oliveira**

Universidade Federal da Paraíba, Centro de Biotecnologia, Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores, João Pessoa-PB

### **Hyago Luiz Rique**

Universidade Federal da Paraíba, Centro de Biotecnologia, Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores, João Pessoa-PB

### **Gabriel Joventino do Nascimento**

Universidade Federal da Paraíba, Centro de Biotecnologia, Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores, João Pessoa-PB

Para viabilizar as pesquisas envolvendo culicídeos, se faz necessário criar e manter esses invertebrados em ambiente laboratorial, o que é um desafio. O Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba (Lapavet/CBiotec/UFPB), desenvolve pesquisas que vão desde o estudo da fisiologia básica de mosquitos *Aedes aegypti*, até o desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas para o seu controle, mantendo uma colônia cíclica desde 2013.

Nesse sentido, o objetivo desse capítulo é apresentar um protocolo de criação e manejo de uma colônia de mosquitos *Ae. aegypti* para fins de pesquisa, baseado em nossa experiência.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os mosquitos culicídeos tem grande importância para a saúde pública, uma vez que são os transmissores de inúmeras arboviroses, tais como dengue, zika, chikungunia e febre amarela (Eiras, 2001; Nunes et al, 2015). Apesar de todas as pesquisas que vem sendo desenvolvidas no sentido de desenvolver vacinas e tratamentos para essas doenças, o combate aos mosquitos vetores ainda é a principal forma de combate da maioria dessas enfermidades (Oliveira et al, 2016).

## 2 | CONHECENDO O MOSQUITO *Aedes AEGYPTI*

O *Ae. aegypti* é um mosquito de atividade diurna, pertencente a ordem Díptera, a família Culicidae e ao gênero *Aedes* (Brasil, 2001), (Figura 1). Díptero de origem africana, é considerado um ancestral de um mosquito zoófilo chamado *Ae. aegypti formosus*. Especula-se que devido ao tráfico de escravos, foi introduzido no novo mundo espalhando-se

para regiões tropicais e subtropicais, sendo dependente da presença humana para estabelecer-se no local (Brown et al., 2011).

O *Ae. aegypti* é um inseto holometábolo, ou seja, apresenta desenvolvimento completo, pois seu ciclo biológico envolve as fases de ovo, larva (quatro estágios), pupa e adultos (Forattini, 2002). As fases imaturas ocorrem em ambiente aquático, chamados de criadouros. Já a fase adulta não é dependente do ambiente aquático (Forattini, 1962).



Figura 1: Mosquito *Ae. aegypti* em sua forma adulta.

## 2.1 Características Morfológicas do *Ae. aegypti*

### *Ovos*

Os ovos de *Ae. aegypti* são imóveis, alongados e medem cerca de 0,4 mm de comprimento. Apresentam coloração pálida no momento da oviposição, tornando-se escuros após o contato com o oxigênio (Consoli & Oliveira, 1998), (Figura 2). As fêmeas fazem a deposição dos ovos nas paredes de criadouros contendo água parada (Forattini, 1962). Em condições ambientais favoráveis, os ovos se desenvolvem e logo após imersão em água, eclodem. Quando submetidos a situações adversas, como baixas temperaturas, ou mesmo ausência de água, ocorre a diapausa ou quiescência, que pode durar até 1 ano. Depois desse período, poderá acontecer a eclosão de forma natural, se for submetido à água em situação ambiental favorável (Xavier et al 1991; Consolli & Oliveira, 1994).



Figura 2: Ovos de *Ae. aegypti*

### *Larvas*

As larvas resultantes da eclosão dos ovos são sempre aquáticas, possuem aspecto vermiforme e coloração que varia entre o esbranquiçado, esverdeado ou enegrecido. Os quatro estágios da fase de larva (L1-L4) duram cerca de 10 dias, podendo se prolongar por algumas semanas de acordo com as condições climáticas. O seu corpo é nitidamente dividido em cabeça, tórax e abdome. Os dois primeiros são mais volumosos se forem comparados ao abdome, que possui aparência semicilíndrica e está dividido em nove segmentos (Figura 3). A maioria das larvas de mosquitos alimenta-se de quaisquer partículas de matéria orgânica que estão disponíveis em seu habitat (Consoli & Oliveira, 1998).



Figura 3: Larva de *Ae. aegypti*

### *Pupas*

A pupa é a última fase aquática (Figura 4 A). Essa fase dura entre 48 a 72 horas e é nela que ocorre a metamorfose para o mosquito. A pupa possui bastante mobilidade no meio aquático e apresenta um contorno geral que lembra uma vírgula, sendo possível distinguir o cefalotórax e abdome de forma clara (Forattini, 2002). Possui inicialmente a mesma coloração da larva, escurecendo a medida em que se aproxima o momento da emergência da fase alada do mosquito (Figura 4B) (Consoli & Oliveira, 1998).

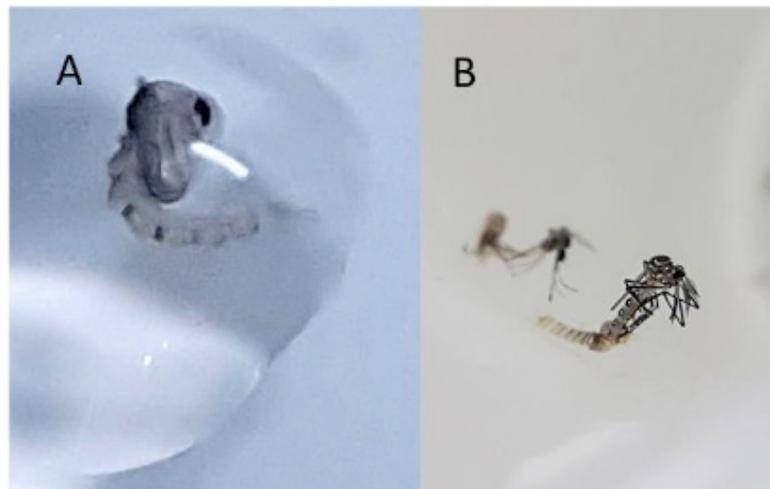


Figura 4: A) Pupa de *Ae. aegypti*. B) Adulto emergindo da pupa.

### *Adulto*

O mosquito adulto possui a aparência geral de um pequeno inseto, com cerca de 0,5 cm de envergadura, de porte delgado e pernas longas. Geralmente os machos são menores do que as fêmeas e possuem antenas mais plumosas (Forattini, 1962). Os adultos de ambos os sexos alimentam-se de seiva vegetal. Embora não se saiba muito sobre esse tipo de alimentação em condições naturais, supõe-se que ela deva ser a única opção viável para os machos (Forattine, 1962). Somente as fêmeas dos mosquitos são hematófagas, estando a alimentação a base de sangue relacionada ao desenvolvimento de ovos. A fêmea só precisa de um repasto sanguíneo para conseguir ovipor por toda sua vida, porém, o repasto sanguíneo pode também contribuir para aumentar a longevidade das fêmeas (Consoli, 1982).

### *Estabelecimento da colônia de mosquitos*

O estabelecimento da colônia de mosquitos é uma parte fundamental quando se vai iniciar um insetário para fins científicos. Se for possível, é recomendável solicitar uma doação de ovos de algum laboratório já consolidado. Do contrário, será necessário colocar armadilhas de oviposição no ambiente peridomiciliar e proceder a identificação dos insetos antes de colocá-los no insetário, tarefa bastante árdua.

Alguns estudos relatam que após algum tempo, as colônias podem apresentar algum grau de debilidade (Guedes et al, 2017) ou até mesmo a perda de características morfológicas, algo que observamos no insetário do Lapavet/CBiotec/UFPB. Dessa forma, a cada 6 meses nós introduzimos novos mosquitos na colônia, sejam provenientes da natureza, sejam doados de outros insetários. Assim, garantimos a variabilidade genética da colônia.

### *Confecção das caixas criatórias (insetários)*

Tradicionalmente os insetários são confeccionados a partir de uma estrutura metálica na forma de um cubo, recoberto por tecido telado. No entanto, verificamos que esses insetários são mais frágeis e apresentam maior dificuldade de manuseio e principalmente de limpeza. No Lapavet adotamos caixas plásticas de 30 litros (A x C x L:42,5 x 30,7 x 30,5 cm), as quais devem ser adaptadas da seguinte forma: deve-se perfurar toda a tampa e laterais da caixa para melhor ventilação; deve-se fazer uma abertura circular de 15 cm de diâmetro na frente da caixa, acoplando-se nela um tecido de TNT como se fosse uma manga de camisa, fechando-a com elástico (Figura 5)



Figura 5: Insetário confeccionado com caixa plástica.

### *Condições de temperatura, umidade e fotoperíodo*

Fatores como temperatura, umidade e luminosidade são muito importantes para a manutenção da vida dos mosquitos, influenciando diretamente ou indiretamente no seu ciclo de vida, afetando seu desenvolvimento e, até mesmo, a sua alimentação (Silveira Neto, Nakano, *et al.*, 1976; Paiva, 2012). Sendo assim, as condições laboratoriais devem ser as mais parecidas possíveis àquelas encontradas pelo inseto

em seu habitat natural. A temperatura ideal para a manutenção dos mosquitos *Ae. aegypti* é em torno de 26 °C (Anjolette & Macoris, 2016), tolerando-se uma variação entre 22-30 °C. As temperaturas de 18 °C e 34 °C são consideradas extremas e desfavoráveis para o ciclo de vida do *Ae. aegypti*. (Beserra, Fernandes, Silval, Silva, & Santos, 2009). Com relação a umidade relativa do ar (UR), esta deve estar em torno de 75%, tolerando-se uma faixa entre 40-80 % (Farnesi et al, 2018). Com relação ao fotoperíodo, adotamos 12 horas de claro e escuro.

A melhor maneira de se manter as condições ideais de temperatura, umidade e luminosidade é através de uma câmara climatizada do tipo Biological Oxygen Demand (BOD), pois evita variações que podem comprometer o insetário e as pesquisas desenvolvidas no laboratório. Dessa forma, adotamos as seguintes condições: temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR de  $75 \pm 5\%$  e fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro (WHO, 2013; Nunes, Oliveira, *et al.*, 2019). A ausência de uma estufa BOD não inviabiliza a manutenção dos insetos, já que algum grau de variação é tolerável. Nestes casos o uso de um aparelho termo-higrômetro é recomendável.

### *Manejo de postura, eclosão e armazenamento dos ovos*

Para postura, utiliza-se uma palheta de papel filtro poroso, a qual é imersa em água desclorada, num recipiente cilíndrico de coloração âmbar, cheio até a metade. Dessa forma, parte do papel filtro estará apenas umedecida e não submersa em água, o que possibilitará o pouso e postura das fêmeas. Esse recipiente deve ser mantido no insetário e após a postura de ovos, a palheta é retirada do insetário e posta em local seco e arejado, para que os ovos sequem e o processo de eclosão não seja iniciado. Após a secagem do papel filtro, caracterizada pelo toque seco do mesmo, os ovos poderão ser armazenados adequadamente, mantendo sua viabilidade (Anjoletti & Macoris, 2016). Antes da armazenagem porém, cada palheta é identificada com a data de retirada do insetário e informação extras que sejam necessárias, tais como número de ovos, identificação da linhagem e etc., no verso do papel filtro. O armazenamento é feito em um recipiente plástico com tampa, e o mesmo mantido em local seco e arejado, por até 4 meses.

Para dar continuidade ao ciclo de vida do *Ae. aegypti* em laboratório, é necessário dar início ao processo de eclosão dos ovos. Uma palheta de papel filtro com aproximadamente 300 ovos deve ser colocada no fundo de uma bandeja plástica com 1L de água desclorada e 500mg de ração nutritiva macerada (tabela 1). A ração servirá tanto como substrato para microrganismos (gerando um consumo de oxigênio, fator que estimula a eclosão dos ovos), quanto para a alimentação adequada das larvas após a eclosão (Forattini, 1962; Macoris et al, 2014). A limpeza da água da bandeja deve ser feita diariamente com muito cuidado, visto que a primeira forma larval após a eclosão do ovo mede menos que 1mm, mantendo sempre os níveis de água e ração e retirando apenas exúvias e excretos (Forattini, 1962).

Componente	Quantidade (g/Kg)*
Umidade	100g
Proteína Bruta	55g
Extrato Etéreo	90g
Matéria Fibrosa	30g
Minerais	80g
Cálcio	20g
Fósforo	8g
Ácidos Graxos Ômega 3	10g

Tabela Nutricional da Ração

\* Valores podem variar de acordo com o fabricante da ração

### *Manejo de larvas e pupas*

As larvas obtidas das bandejas de eclosão de ovos são acompanhadas até chegarem ao estágio de pupa, o que leva cerca de quatro a dez dias. Durante esse processo de amadurecimento dos estágios larvais, a limpeza das bandejas deve ser realizada a cada 48 horas, mantendo sempre os níveis de água e ração e retirando exúvias e excretos. Após a limpeza, adiciona-se 500 mg de ração conforme mencionado anteriormente (Braga, 2007).

Na fase de pupa, que é a última fase aquática do *Ae. aegypti*, o mesmo não se alimenta, já que o mosquito está dentro de uma película protetora, esperando sua maturação para emergir. Não existe a necessidade de adicionar material orgânico nas bandejas para a alimentação, mas faz-se necessária a transferência das pupas para dentro do insetário, onde após 2 a 3 dias, emergirão e assim, dando origem aos mosquitos alados. (Brasil, 2016b).

### *Alimentação de mosquitos adultos*

A alimentação dos mosquitos adultos é um fator importantíssimo para manter a sanidade da colônia. Machos e fêmeas necessitam de fontes de carboidratos para sua sobrevivência. Na natureza, essa fonte é o néctar de flores e o suco de frutos (Leandro, 2012). Os mosquitos adultos ingerem gotículas de carboidratos, mergulhando a ponta da labela no líquido. Os açúcares ingeridos são então armazenados no divertículo ventral e posteriormente são gradualmente digeridos no estômago. Diferentes carboidratos podem servir de fonte nutricional para os mosquitos, sendo a glicose, sacarose, maltose e frutose os mais eficientes (Consolli, 1982).

No Lapavet/CBiotec/UFPB, adotamos 2 diferentes fontes de carboidratos para alimentação dos mosquitos adultos. São elas, solução de mel em água, ou solução de dextrose em água, ambas a 10%. Apesar de muitos pesquisadores utilizarem a solução de mel para alimentação dos adultos (Foratine, 1962., Macoris et al, 2014., Anjolette et al, 2016), nossos estudos mostraram algumas vantagens na utilização da dextrose. Mosquitos alimentados com a solução de dextrose, viveram em média 14 dias a mais que os que foram alimentados com a solução a base de mel. Outra vantagem da utilização da dextrose em comparação com o mel está relacionada a contaminação. Em nossa experiência, foi possível observar que os dispositivos de alimentação umedecidos com a solução de mel, apresentaram contaminação visível por fungos após 1 semana, enquanto que nos casos onde a fonte nutricional era a dextrose, essa contaminação só era verificada ao final da segunda semana. Sendo assim, levando-se em consideração os aspectos apresentados, sugerimos o seguinte esquema de alimentação:

1. Preparação da solução de dextrose a 10%. Após o preparo a solução deve ser etiquetada com a identificação e data de preparo. A mesma deve ser armazenada em geladeira por um período máximo de 4 semanas.
2. Como dispositivo de alimentação, sugere-se a utilização de 1 absorvente interno feminino (composição a base de rayon, polietileno, poliéster e viscosa).
3. O dispositivo, que fica permanentemente dentro do insetário, deve ser umedecido diariamente com a solução de dextrose, e deve ser trocado a cada 2 semanas, ou sempre que haja contaminação ou anormalidade visível.

Sabe-se que as fêmeas de culicídeos necessitam da alimentação a base de sangue para realizarem a oviposição dos seus ovos. Na natureza, a fonte desse tipo de alimentação é preferencialmente o homem, para aqueles mosquitos antropofílicos, como o *Aedes aegypti*. No ambiente laboratorial, diversos animais podem ser utilizados para alimentar as fêmeas de mosquitos, porém, por fins de bem estar animal, devemos diminuir o máximo possível a sua utilização direta. Dessa forma, encorajamos a utilização da alimentação por via artificial. Para garantir uma boa oviposição, sugerimos que as fêmeas sejam expostas ao alimentador artificial contendo sangue aquecido a 37 C, pelo menos 3 vezes na semana, de acordo com o seguinte protocolo:

1. Pelo menos 4 horas antes de iniciar a alimentação sanguínea, o dispositivo de alimentação a base de dextrose deve ser retirado do insetário.
2. O sangue utilizado para a alimentação deve ser preferencialmente de mamíferos, pois verificamos que esse tipo de sangue tem maior poder de atrair as fêmeas quando comparado ao sangue de aves. O sangue pode estar misturado a anticoagulantes e armazenado em geladeira por 1 semana.
3. Antes de ser colocado no alimentador artificial, o sangue deve ser aquecido a 37C e permanecer no insetário pelo tempo de 1 a 2 h, sempre tendo o cuidado de verificar e manter a temperatura em torno dos 37 C.

## REFERÊNCIAS

- ANJOLETTE, AFF; MACORIS, MLG. Técnicas para manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório. BEPA 2016;13(156):19-29.
- BESERRA, E. B. et al. Efeitos da temperatura no ciclo de vida, exigências térmicas e estimativas do número de gerações anuais de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). Iheringia, Sér. Zool, Porto Alegre, v. 99, n. 2, June 2009. ISSN 1678-4766.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência\*. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Dengue. Instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde/Fundação Nacional de Saúde, 2001.
- BRASIL . Recomendações técnicas ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária para colaborar no combate ao *Aedes aegypti* e prevenção e controle da Dengue, Chikungunya e infecção pelo vírus Zika. Brasília-DF. 2016.
- BROWN JE, MCBRIDE CS, JOHNSON P, RITCHIE S, PAUPY C, BOSSIN H, et al. Worldwide patterns of genetic differentiation imply multiple domestications of *Aedes aegypti*, a major vector of human diseases. Proc Biol Sci. 2011, 278:2446-2454.
- CONSOLI, R. A. G. B; OLIVEIRA, R. L. Mosquitos de importância sanitária. 1. Ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994.
- CONSOLI, R. A. G. B; OLIVEIRA, R. L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. 2. Ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1998.
- EIRAS, AE. Culicidae. In: Neves, DP. Parasitologia humana. 12 ed. São Paulo: Atheneu, 2011.
- FARNESI LC, BARBOSA CS, ARARIPE, LO, BRUNO, RV. The influence of a light and dark cycle on the egg laying activity of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 113(4): e170362, 2018.
- FORATTINI, O.P. 2002. Culicidologia Médica. EdUSP, São Paulo, v.2, 860p.
- FORATTINI, O.P. Entomologia médica. São Paulo, Editora da USP, 1962. v. 1.
- GUEDES DR, PAIVA MH, DONATO MM, et al. Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. *Emerg Microbes Infect.* 2017;6(8):e69. Published 2017 Aug 9. doi:10.1038/emi.2017.59
- IMAM, H.; ZARNIGAR, D.; SOFI, G.; AZIZ, S. The basic rules and methods of mosquito rearing (*Aedes aegypti*). Tropical Parasitology, v. 4, p. 53-55, 2014.
- MACORIS MLG, ANJOLETTE AFF, MUNERATO NOS, OTRERA VCG. Elaboração do procedimento operacional padrão para eclosão de ovos de *Aedes aegypti*, para o Laboratório de Entomologia Aplicada da Superintendência de Controle de Endemias. Marília: SUCEN; 2014.
- NUNES, F. C.; LEITE, JACQUELINE A.; OLIVEIRA, LOUISE H. G.; SOUSA, PATRÍCIA A. P. S.; MENEZES, MÁRCIO C.; MORAES, JOÃO P. S.; MASCARENHAS, SANDRA R.; Braga, V.A. The larvicidal activity of *Agave sisalana* against L4 larvae of *Aedes aegypti* is mediated by internal necrosis and inhibition of nitric oxide production. Parasitology Research (1987. Print). , v.114, p.543 549, 2015.
- NUNES, F. D. C. et al. BIOTECNOLOGIA NO CONTROLE DE MOSQUITOS TRANSMISSORES DE

ARBOVIROSES: BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA EM MOSQUITOS ADULTOS. [S.I.]: Atena Editora, v. 2, 2019.

OLIVEIRA, LHG; ALEXANDRIA, PPSS; HILARIO, FF; JOVENTINO, GN; SARAIVA, JPM; MEDEIROS, EP; SOUSA, MF; NUNES, FC. Agave sisalana extract induces cell death in *Aedes aegypti* hemocytes increasing nitric oxide production. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* , v.6, p.396 - 399, 2016.

PAIVA, F. H (2012). Efeito de temperaturas alternadas sobre o desenvolvimento de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: CULICIDAE). Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Estadual Paulista , Rio Claro .

SILVEIRA NETO, S., NAKANO, O, BARBIN, D., & VILLA NOVA, N.A. (1976). Manual de ecologia de insetos. São Paulo: Agronômica Ceres.

WHO - World Health Organization. (2013). *Guidelines for Efficacy testing of Spatial repellents. Control of neglected tropical diseases.* Geneva.

## TRIAGEM FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Mansoa difficilis* E *Hippocratea volubilis*

### Mayara Cristina Neves Abel

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,  
Unidade Universitária de Dourados, Dourados,  
MS

### Letícia Pezenti

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,  
Unidade Universitária de Mundo Novo, Mundo  
Novo, MS.

### Nathani Fernandes Alves Silva

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,  
Unidade Universitária de Mundo Novo, Mundo  
Novo, MS.

### Bruno Henrique Feitosa

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,  
Unidade Universitária de Mundo Novo, Mundo  
Novo, MS.

### Ana Francisca Gomes da Silva

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,  
Unidade Universitária de Mundo Novo, Mundo  
Novo, MS.

**RESUMO:** O presente trabalho teve como objetivo realizar a triagem fitoquímica e avaliar a atividade antioxidante, bem como determinar os teores de fenóis e flavonoides totais dos extratos metanólicos das folhas de *Hippocratea volubilis* e *Mansoa difficilis* que ocorrem em Mundo Novo, MS. A análise preliminar da composição química foi realizada por testes *in vitro*, com reagentes específicos para diferentes classes de metabólitos secundários.

A atividade antioxidante foi determinada pelo método de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) e a quantificação de fenóis e flavonoides totais foi realizada por espectrofotometria na região do visível. Na análise química foram identificados alcaloides, flavonoides, triterpenos e/ou esteroides, taninos e saponinas nos extratos de ambas as espécies. Purinas e catequinas apenas no extrato de *H. volubilis*. *H. volubilis* apresentou teor mais elevado de fenóis totais ( $10,01 \pm 1,31$  mg EAG/g) e maior efetividade no consumo do DPPH ( $IC_{50} = 65,49 \pm 5,10$   $\mu$ g/mL). Os teores de flavonoides totais dos extratos não apresentaram diferença significativa. Os resultados sugerem que a ação antioxidante das espécies está relacionada à presença de compostos fenólicos como flavonoides, e possivelmente taninos e catequinas revelados na triagem fitoquímica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fitoquímica; fenóis; antioxidante.

### PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Mansoa difficilis* AND *Hippocratea volubilis*

**ABSTRACT:** The present work aimed to perform the phytochemical screening and to evaluate the antioxidant activity, as well as to determine the

phenol and total flavonoid content of the methanolic extracts of the leaves of *Hippocratea volubilis* and *Mansoa difficilis* that occur in Mundo Novo, MS. The preliminary analysis of the chemical composition was performed by *in vitro* tests, with specific reagents for different classes of secondary metabolites. The antioxidant activity was evaluated by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) scavenging method and the quantification of total phenols and flavonoids by spectrophotometry in the visible region. The phytochemical results indicated the presence of alkaloids, flavonoids, triterpenes and/or steroids, tannins and saponins in extracts of both species. Purines and catechins only in *H. volubilis* extract. *H. volubilis* presented higher total phenol content ( $10.01 \pm 1.31$  mg GAE/g) and higher effectiveness in DPPH consumption ( $IC_{50} = 65.49 \pm 5.10$   $\mu$ g/mL). The total flavonoid contents of the extracts showed no significant difference. The results suggest that the antioxidant action of the species is related to the presence of phenolic compounds such as flavonoids, and possibly tannins and catechins found in phytochemical screening.

**KEYWORDS:** Phytochemistry; phenols; antioxidant.

## 1 | INTRODUÇÃO

Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, entre outras espécies, originadas de reações químicas ou processos bioquímicos podem ocasionar danos oxidativos a várias biomoléculas como carboidratos, lipídeos, proteínas e ácido desoxirribonucleico (LOBO et al., 2010). Compostos com potencial antioxidante podem retardar ou inibir a oxidação destas macromoléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre as espécies oxidantes e antioxidantes em favor da geração excessiva de espécies reativas ou, em detrimento da velocidade de remoção desses pelo sistema de defesa antioxidante, tendo como consequência os danos oxidativos (VASCONCELOS et al., 2007).

A relação entre a etiologia de diversas doenças e a ação de espécies reativas em excesso no organismo têm aumentando o interesse na descoberta de novos antioxidantes de origem natural (VIEIRA et al., 2015). Os compostos fenólicos de fontes vegetais destacam-se dentre as classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural e enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, cumarinas, flavonoides e taninos. O poder antioxidante destes compostos está relacionado principalmente com suas propriedades de óxido-redução, as quais desempenham um importante papel na neutralização ou sequestro de radicais livres (SOUSA et al., 2007; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

Estudos realizados com fenólicos demonstram sua capacidade antioxidante, assim como seu possível efeito na prevenção de enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e neurológicas ((HARBORNE; WILLIAMS, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Desta forma, na busca de espécies com potencial biológico, o presente

trabalho teve como objetivos realizar a triagem fitoquímica e avaliar a atividade antioxidante, bem como determinar os teores de fenóis e flavonoides totais dos extratos metanólicos das folhas de *Hippocratea volubilis* e *Mansoa difficilis*, lianas ocorrentes no sul de Mato Grosso do Sul.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Coleta e obtenção dos extratos

O material vegetal (folhas) foi coletado em setembro de 2017 em um fragmento florestal inserido na área urbana do município de Mundo Novo/Mato Grosso do Sul, sendo a identificação das espécies realizadas por especialistas na área. As folhas foram secas ao ar, moídas e submetidas à extração com metanol (PA). Posteriormente foram filtradas e concentradas sob pressão reduzida. Assim foram obtidos 19,41 g de extrato de *H. volubilis* e 12,89 g de extrato de *M. difficilis*.

### 2.2 Triagem fitoquímica

Os extratos metanólicos foram submetidos a análise preliminar da composição química realizada por testes *in vitro*, com reagentes específicos (SIMÕES et al., 2010) para identificar, principalmente sob observação de coloração e/ou precipitado característico, os seguintes grupos de metabólitos secundários: alcaloides, flavonoides, triterpenos e/ou esteroides, taninos, saponinas, purinas, catequinas, polissacarídeos, sesquiterpenlactonas e outras lactonas.

### 2.3 Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada avaliando o consumo do radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) pelas amostras (SOUSA et al., 2007; OLIVEIRA, 2015), através da medida do decréscimo da absorbância de soluções com diferentes concentrações de extratos (200 a 25 µg/mL). As absorbâncias das misturas reacionais (amostra e solução de 0,1 mM de DPPH) foram registradas ao final de 60 minutos a 515 nm em espectrofotômetro UV/vis Tecnal. Como controle positivo foi utilizado o ácido gálico, preparado nas mesmas condições das amostras. A partir dos valores de absorbância foi determinada a concentração inibitória necessária para reduzir em 50% o DPPH (IC<sub>50</sub>).

### 2.4 Determinação dos teores de fenóis e flavonoides totais

A quantificação dos fenólicos totais (FT) foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (BONOLI et al., 2004). O ácido gálico foi usado como padrão para construção da curva de calibração e os resultados expressos como miligrama de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg

EAG/g). A determinação do teor de flavonoides totais (FVT) foi realizado pelo método colorimétrico com cloreto de alumínio (SANTI et al., 2014) utilizando quercetina como padrão de referência. Os resultados foram expressos em miligrama de equivalente de quercetina por grama de amostra (mg EQ/g).

## 2.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão ( $n = 3$ ) para cada extrato. O tratamento estatístico dos dados se deu pela análise de variância (ANOVA) utilizando o programa computacional Sisvar 5.6. O valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Triagem fitoquímica

Na triagem fitoquímica foi possível identificar alcaloides, flavonoides, triterpenos e/ou esteroides, taninos e saponinas nos extratos de ambas as espécies. Purinas e catequinas apenas no extrato de *H. volubilis*. Os testes fitoquímicos indicaram ainda a ausência de polissacarídeos e sesquiterpenlactonas e outras lactonas nos extratos (Tabela 1).

Estudos prévios relatam o isolamento de estér de triterpenos do extrato das cascas da raiz de *H. volubilis* (ALVARENGA; FERRO, 2000) e compostos esteroides e triterpenos do extrato hexânico das folhas de *M. difficilis* (SILVA et al., 2010).

Grupos de metabólitos secundários	Extratos metanólicos brutos	
	<i>H. volubilis</i>	<i>M. difficilis</i>
Alcaloides	+	+
Flavonoides	+	+
Triterpenos e/ou esteroides	+	+
Taninos	+	+
Saponinas	+	+
Purinas	+	-
Catequinas	+	-
Polissacarídeos	-	-
Sesquiterpenlactonas e outras lactonas	-	-

Tabela 1. Triagem fitoquímica dos extratos metanólicos das folhas de *H. volubilis* e *M. difficilis*

### 3.2 Atividade antioxidante

O ensaio de redução do radical livre DPPH frequentemente é utilizado para a investigação do potencial antioxidante de extratos de plantas. Assim, a atividade antioxidante dos extratos de *C. floribundus* e *C. urucurana* foram expressos pelo

valor de  $IC_{50}$  que é um parâmetro indicativo da concentração inibitória para diminuir em 50% o radical. Quanto menor o valor de  $IC_{50}$ , maior a atividade antioxidante (OLIVEIRA, 2015).

Os teores de FT, FVT e os valores de  $IC_{50}$  das espécies ensaiadas estão relacionados na Tabela 2. Comparando os valores de  $IC_{50}$  produzidos pelas amostras, constatou-se que a maior efetividade na capacidade antioxidante foi para o extrato de *H. volubilis* ( $65,49 \pm 5,10 \mu\text{g/mL}$ ). Este extrato apresentou estatisticamente teor mais elevado de FT ( $10,01 \pm 1,31 \text{ mg EAG/g}$ ). Já o extrato de *M. difficilis* produziu  $IC_{50}$  de  $185,03 \pm 5,45 \mu\text{g/mL}$  e registrou teor de FT de  $5,32 \pm 0,01 \text{ mg EAG/g}$ . Os teores de FVT entre os extratos não apresentaram diferença significativa ( $5,70 \pm 0,38 \text{ mg EQ/g}$  de *H. volubilis* e  $5,26 \pm 0,17 \text{ mg EQ/g}$  de *M. difficilis*).

Amostras (extratos)	FT (mg EAG/g)	FVT (mg EQ/g)	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>H. volubilis</i>	$10,01 \pm 1,31^a$	$5,70 \pm 0,38^a$	$65,49 \pm 5,10^b$
<i>M. difficilis</i>	$5,32 \pm 0,01^b$	$5,26 \pm 0,17^a$	$185,03 \pm 5,45^a$
Ácido gálico	-	-	$3,91 \pm 0,71$

Tabela 2. Teores de fenóis totais (FT), flavonoides totais (FVT) e valores de  $IC_{50}$  dos extratos metanólicos brutos das folhas de *H. volubilis* e *M. difficilis*

Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n = 3); médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

No presente estudo a atividade antioxidante registrada para as espécies apresentou correlação com o teor de FT, pois o extrato de *H. volubilis*, o mais ativo em relação ao consumo do radical livre DPPH foi também o que apresentou a maior concentração de compostos fenólicos (Tabela 2). É possível que os principais constituintes fenólicos, além de flavonoides, sejam taninos e catequinas compostos reconhecidamente como potentes antioxidantes (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; SANTOS; RODRIGUES, 2017) revelados na triagem fitoquímica.

Atividade antioxidante semelhante a encontrada neste estudo foi descrita anteriormente para os extratos e frações das partes aéreas de *H. volubilis*, os valores de  $IC_{50}$  variaram de  $16,91$  a  $72,31 \mu\text{g/mL}$ . Segundo os autores os resultados demonstraram que a espécie tem potencial farmacológico como seqüestradora de radicais livres (RIBEIRO et al., 2008).

Outras espécies do gênero *Mansoa* foram avaliadas quanto à ação antioxidante, porém com valores de CE50 menores que os produzidos por *M. difficilis* neste estudo. O extrato etanólico e diferentes frações de *Mansoa hirsuta* foram eficientes na redução do DPPH produzindo CE50 entre  $29,1 \pm 1,1$  a  $59,0 \pm 9,9 \mu\text{g/mL}$  (PEREIRA et al., 2017), tal como os extratos de petróleo e etanólico das folhas de *Mansoa hymenaea* que apresentaram CE50 igual a  $9,0$  e  $65,7 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente (ZOGHBI et al., 2009).

## 4 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que os extratos das folhas de *H. volubilis* e *M. difficilis* apresentam substâncias bioativas e sugerem que a ação antioxidante das espécies está relacionada à presença de compostos fenólicos como flavonoides quantificados neste estudo, e possivelmente de taninos e catequinas detectados na triagem fitoquímica.

## REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, N.; FERRO, E. A. **A new lupane caffeoyl ester from *Hippocratea volubilis*.** Fitoterapia, v. 71, n. 6, p. 719-721, 2000.
- BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F. **Phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: Comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds.** J. Agric. Food Chem., v. 52, n. 16, p. 5195-5200, 2004.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos.** Visão Acadêmica, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. **Advances in flavonoid research since 1992.** Phytochemistry, v. 52, n. 6, p. 481- 504, 2000.
- LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. **Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health.** Pharmacogn. Rev. v. 4, n. 8, p. 118-126, 2010.
- OLIVEIRA, G. L. S. **Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão.** Rev. Bras. Plantas Med., v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.
- PEREIRA, J. R.; QUEIROZ, R. F.; SIQUEIRA, E. A.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; SANT'ANA, A. E. G.; SILVA, D. M.; AFFONSO, P. R. A. M. **Evaluation of cytogenotoxicity, antioxidant and hypoglycemic activities of isolate compounds from *Mansoa hirsuta* D.C. (Bignoniaceae).** An. Acad. Bras. Ciênc., v. 89, n.1, p. 317-331, 2017.
- RIBEIRO, M. A. S.; TANAKA, C. M. A.; COSTA, W. F.; AMADO, C. A. B.; SARRAGIOTTO, M. H. **Avaliação da atividade antioxidante e antiinflamatória da espécie vegetal *Hippocratea volubilis*.** 31a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2008.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. **Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems.** Food Science Technology International, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.
- SANTI, M. M.; SANCHES, F. S.; SILVA, J. F. M.; SANTOS, P. M. L. **Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal *Cordia verbenacea* DC. por HPLC-DAD.** Rev. Bras. Plantas Med., v. 16, n. 2, p. 256-261, 2014.
- SANTOS, A. S.; RODRIGUES, M. M, F. **Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão.** Estação Científica (UNIFAP), v. 7, n. 3, p. 29-35, 2017.
- SILVA, E. S.; PEIXOTO, R. N. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S.; ARRUDA, M. S. P.; ZOGHBI, M. G. **Outros constituintes de *Mansoa difficilis* (Bignoniaceae).** 33a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, 2010.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK.

P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010. 1104 p.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais**. *Quim. Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

VIEIRA, L. M.; CASTRO, C. F. S.; DIAS, A. L. B.; SILVA, A. R. **Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae)**. *Rev. Bras. Plantas Med.*, v. 17, n. 4, p. 521-527, 2015.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. **Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação**. *Quim. Nova*, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

ZOGHBI, M. G. B.; OLIVEIRA, J.; GUILHON, G. M. S. P. **The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds**. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v. 19, n. 3, p. 795-804, 2009.

## UTILIZAÇÃO DE TÍBIAS SECAS DE ADULTOS NA ESTIMATIVA DO SEXO E IDADE POR MEIO DE MEDIDAS LINEARES

### **Rinaldo Alves da Silva Rolim Junior**

Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

juniorrolim\_@hotmail.com

### **Amanda Santos Meneses Barreto**

Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

### **Bruna Maria Barros de Jesus**

Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

### **Gabrielle Souza Silveira Teles**

Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

### **Kellyn Mariane Souza Sales**

Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

### **Mylla Crisley Trindade Carvalho**

Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

### **Renata Queiroz Corrêa**

Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

### **Erasmio de Almeida Júnior**

Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

**RESUMO: Introdução** - Para o diagnóstico do sexo através da porção cefálica ou outra parte do esqueleto, pode-se utilizar métodos qualitativos e quantitativos. Os métodos qualitativos compreendem a observação visual das características morfológicas do esqueleto, realizadas de maneira sistemática. Os métodos quantitativos são técnicas que determinam a medição óssea, o que permite a avaliação comparativa entre estudos realizados por diversos pesquisadores. **Objetivo** - O objetivo do nosso trabalho foi estimar a idade

e o sexo utilizando-se tíbias secas de adultos através de medidas lineares. **Métodos** - Foram utilizadas para o estudo 150 tíbias secas, sendo 62 do sexo feminino e 88 do sexo masculino, todas maiores de 20 anos de idade, pertencentes ao Laboratório de Anatomia Humana da Universidade Tiradentes – UNIT, com autorização prévia da Coordenação dos Laboratórios. Para o presente estudo foram tomadas as seguintes medidas lineares: largura máxima da tíbia (*lmt*), espessura máxima da tíbia (*emt*) e distância intercondilar da tíbia (*dict*). As medidas foram realizadas utilizando-se um paquímetro digital de precisão graduado em milímetros, devidamente calibrado. A amostra foi estatisticamente tratada utilizando-se os seguintes métodos: para predição do sexo foi utilizado o teste *t* para comparação das médias e intervalo de confiança, regressão logística, análise de função discriminante e o método da regressão linear múltipla, este último para estimativa da idade. Em todos os testes estatísticos foi adotado o nível de significância de 5% e as análises foram conduzidas com base no sistema SAS (SAS Institute Inc. The SAS System, release 9.3, Cary: NC. 2010). **Resultados** - A análise de variância dos dados mostrou que os indivíduos do sexo masculino apresentaram médias das variáveis maiores que as do sexo feminino. De acordo com o teste *t*, ocorreu diferença significativa entre as médias

das variáveis exceto na variável *emt* ( $p:0,0534$ ). Os intervalos de confiança de uma das três variáveis (*dict*) se apresentou desconexo, ou seja, não houve interposição de faixas, indicando que esta variável apresenta bons indícios para discriminação do sexo a partir das medidas realizadas ( $p:<0,0001$ ). Através da Análise Discriminante houve índice de acerto da ordem de 69,35% para o sexo feminino e 65,91% para o sexo masculino, apresentando uma taxa total de acertos de 67,63%. Pela regressão logística, foi atingido um índice de concordância de 71,3%. A estimativa da idade foi realizada através de um modelo de regressão linear múltipla. De acordo com os dados, foi constatado que o modelo de predição da idade não foi significativo para as variáveis estudadas ( $p:0,1369$ ). **Conclusões** – De acordo com os resultados, apenas uma das variáveis não apresentou bom resultado na predição do sexo. Com relação à idade, concluímos que não é aconselhável a utilização destas variáveis em pesquisas futuras.

**PALAVRAS-CHAVE:** Medicina legal. Identificação humana. Tíbia.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**RENATA MENDES DE FREITAS** - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Minas Gerais, concluída em 2011; mestrado em Genética e Biotecnologia (2014) também pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). É Doutora em Ciências (2018) pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, na área temática de genética e epidemiologia. Atualmente é professora do ensino a distância na Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), no curso de Ciências Biológicas, lecionando a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I (TCC1) e pós-docanda do Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), onde desenvolve projetos de pesquisas relacionados à epidemiologia molecular do câncer de mama e tumores pediátricos, incluindo aconselhamento e rastreamento genético de grupos com predisposição ao câncer hereditário.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Acidente vascular 1, 2, 6  
Acupuntura 13, 14, 15, 16, 20, 21  
Amazônia 34, 162, 171, 194, 201  
Anatomia humana 8, 232  
Antioxidante 46, 66, 157, 160, 165, 166, 167, 169, 182, 183, 186, 191, 193, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231  
Antitumoral 66, 153, 155, 156, 157, 162  
Arboviroses 72, 76, 81, 84, 85, 215, 224  
Atenção farmacêutica 26, 27, 32  
Atividade antibacteriana 50, 52, 54, 57, 157  
Atividade antifúngica 59, 60, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 168, 177, 178, 179  
Atividade repelente 72, 73, 75, 76

### B

Biofilme 63, 134, 135, 136, 137, 138, 139  
Biotecnologia 52, 72, 73, 80, 83, 84, 99, 112, 115, 175, 176, 215, 223, 234

### C

Cantina universitária 86, 87, 94, 95  
CRISPR/Cas9 98, 99, 106, 108, 109, 111, 114, 115, 116

### D

Determinantes sociais da saúde 140  
Dispositivo médico 134

### E

Edição gênica 111  
Estratégias cirúrgicas 117, 129  
Etnobotânica 176

### F

Fisioterapia 1, 3, 5, 6, 7, 133, 193, 207, 208, 209, 210, 213, 214

### G

Glaucoma 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33

### I

Infecções sistêmicas 135

## L

Leishmanicida 194, 197, 200, 201, 202, 204, 205

## M

Medidas lineares 232

Melanoma 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159

Microcorrente 182, 183, 184, 185, 187, 188, 190, 191, 192

MO-CBP<sub>2</sub> 175, 176, 177

## N

Nei Guan 13, 14, 16, 17, 20

## O

Oligoelemento 182, 183, 186, 187, 191

## P

Perfis imunogenéticos 34

Plantas medicinais 46, 50, 155, 161, 169, 173, 174, 194, 195, 197, 204, 205, 231

Processos imunológicos 34, 37

Programas de imunização 140

Protozoário 195, 196

## R

Reabilitação 1, 3, 4, 5, 6, 207, 210, 211, 212, 213, 214

Regeneração do nervo periférico 117, 119, 128, 130

## S

Saúde orgânica 160

Saúde única 86

Segurança alimentar 86

Síndrome Brown Séquard 207, 208, 209, 213

## T

Tabagismo 112, 182, 183, 184, 192, 193

Tíbias secas 232

Tratamentos fitoterápicos 195

Trauma raquimedular 207, 208, 209, 213

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-781-9



9 788572 477819