

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - UFPE

Anais do
**1º CURSO DE
INVERNO EM
BIOCIÊNCIAS**

Recife - 23-27 de Julho de 2018



Indexada

.periodicos.

latindex

Sumários.org

Google acadêmico

COMISSÃO ORGANIZADORA

André Luiz da Silva do Nascimento
Deyzi Caroline Da Silva Barbosa
Elys Karine Carvalho da Silva
Izabelly Bianca da Silva Santos
José Roberto Pimentel Cabral de Seixas
Julyanne Maria de Lima Barbosa
Luis André de Almeida Campos
Márcia Vanusa da Silva
Maria Tereza dos Santos Correia
Paloma Maria da Silva
Wêndeo Kennedy Costa
Wesley Rodrigues da Silva

COMISSÃO CIENTÍFICA

Deyzi Caroline Da Silva Barbosa
Elys Karine Carvalho da Silva
Izabelly Bianca da Silva Santos
José Roberto Pimentel Cabral de Seixas
Julyanne Maria de Lima Barbosa
Luis André de Almeida Campos
Wêndeo Kennedy Costa
Wesley Rodrigues da Silva

COMISSÃO DE MONITORIA

Isabella Luiza Ralph de Oliveira
Janderson Weydson Lopes Menezes da Silva
Jessica Costa da Silva
João Victor de Oliveira Alves
Larissa Gomes de Arruda
Simone de Santana de Oliveira
Valquiria Bruna Guimarães Silva

APRESENTAÇÃO

O Curso de Inverno em Biociências foi realizado no Auditório Jorge Lobo da Universidade Federal de Pernambuco. O curso teve uma abordagem teórico-prática-investigativa de tópicos relevantes no campo de Ciências Biológicas e Ciências da Saúde, o que permitiu aos alunos de graduação, recém-formados e pós-graduandos, a ampliação do seu conhecimento em relação à pesquisa científica. Além disso foi possível conhecer as diversas linhas de pesquisa inseridas no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco.

Essa abordagem permitiu um aperfeiçoamento e atualização sobre as aplicações biológicas e químicas voltadas para o campo medicinal, assim como aprendizagem dos métodos experimentais empregados nos laboratórios de pesquisa das diversas áreas vinculadas ao programa.

SUMÁRIO

RESUMOS EXPANDIDOS	8
ESTUDO DA NEUTRALIZAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOQUÍMICAS DA PEÇONHA DE <i>Bothrops leucurus</i> SUBMETIDAS AO EXTRATO BRUTO DE <i>Stryphnodendron fissuratum</i> MART. (LEGUMINOSA E MIMOSOIDEAE).....	9
INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO DE SEMENTES DE <i>Stryphnodendron fissuratum</i> (MIMOSOIDEAE) COM PROPRIEDADES NEUTRALIZANTES SOBRE A PEÇONHA DE <i>Bothrops leucurus</i>	13
AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DO SILDENAFIL (VIAGRA®) EM MODELO DE ENCEFALOMIELEITE AUTOIMUNE EXPERIMENTAL (EAE).....	17
ANÁLISE DA COMPATIBILIDADE “IN VITRO” DO EXTRATO VEGETAL DE <i>Tabebuia aurea</i> E O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO <i>Metarhizium anisopliae</i>	22
ANÁLISE CITOTÓXICA DE <i>Sargassum polyceratum</i> Montage COLETADA NO LITORAL PERNAMBUCANO FRENTE À CÉLULAS ERITROCITÁRIAS.....	27
MODIFICAÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADE DE LEVANA MICROBIANA.....	31
ASPECTOS BIOLÓGICOS E ATIVIDADES TERAPÊUTICAS DAS LECTINAS: UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	36
MECANISMOS DE DANOS VASCULARES PELAS DIFERENTES CLASSES DE METALOPROTEASES DE VENENOS DE SERPENTES.....	41
TÉCNICAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS AO MELHORAMENTO VEGETAL: UMA BREVE REVISÃO.....	45
TRANSFRUTOSILAÇÃO DA SACAROSE E PRODUÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS DE LEVANA.....	50
ASPECTOS IMUNOPATOGÊNICOS DA HANSENÍASE.....	55
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE CrataBL ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS FRENTE A CEPAS COM PERFIL DE RESISTÊNCIA.....	59
POLIMORFISMOS EM GENES DE CITOCINAS ANTI E PRÓ- INFLAMATÓRIAS ASSOCIADOS A SUSCETIBILIDADE PARA À TUBERCULOSE.....	65
AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DE <i>Boerhavia Diffusa L.</i> COLETADAS NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO MESOTÉRMICO PERNAMBUCANO.....	69
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DOS GALHOS DA <i>Anadenanthera colubrina</i> (VELL.) BRENAN.....	74
AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE LECTINA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM EXTRATO DE RAIZ DE <i>Borreria verticillata</i>	79
AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO POPULAR SOBRE ACONSELHAMENTO GENÉTICO.....	84
DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA O DIAGNÓSTICO DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO.....	89
ESQUIZOCITOSE EM CÃES E GATOS: REVISÃO DE LITERATURA.....	94
EVOLUÇÃO PONDERAL DE RATOS DE AMBOS OS SEXOS SUBMETIDOS AO DESMAME PRECOCE.....	98
INTERAÇÕES DE VENENO OFÍDICO COM A CASCATA DE COAGULAÇÃO: ENTENDENDO AS TOXINAS PROCOAGULANTES E FIBRINOGENOLÍTICAS.....	103
FISIOPATOGENIA DA DOENÇA DE VON WILLEBRAND CANINA.....	107
DO GENOMA AS TOXINAS: INFLUÊNCIA DA DUPLICAÇÃO GÊNICA SOBRE A COMPOSIÇÃO DE VENENOS ANIMAIS.....	112

TRANSCRIPTÔMICA EMPREGADA AO ESTUDO DE VENENOS ANIMAIS: DESMASCARANDO NOVOS VILÕES ENTRE A MULTIDÃO	116
ÁCIDO DIVARICÁTICO EXTRAÍDO DA <i>Romalina aspera</i> Räsänen: UMA ANÁLISE DE TOXICIDADE RENAL EM CAMUNDONGOS	120
ESTUDO DO POTENCIAL DA LIGNOCELULOSE COMO FONTE DE BIOCOMBUSTÍVEL JUNTO A MODELOS DE BIORREFINARIAS SUSTENTÁVEIS	124
EFEITOS DO TRATAMENTO COM EXTRATOS DA <i>Ramalina aspera</i> RÄSÄNEN NAS MICROESTRUTURAS ESPLÊNICAS DE CAMUDONGOS	130
SÉRIE TEMPORAL DE MORTALIDADE POR CÂNCER COLORRETAL NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL: 2000 A 2016	134
FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE PLANTAS DA CAATINGA: UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	139
O PAPEL DAS METALOPROTEINASES DE MATRIZ EXTRACELULAR NA DOENÇA DE PARKINSON: UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	144
GOTA ÚRICA EM AVES: REVISÃO DE LITERATURA.....	149
INTERAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL COM A NEUROINFLAMAÇÃO: UM ENFOQUE NA MICRÓGLIA.....	153
MIOPATIA DE CAPTURA EM ANIMAIS SELVAGENS: REVISÃO DE LITERATURA.....	156
OCORRÊNCIA DE TUBERCULOSE POR SEXO NO ESTADO DA BAHIA NO PERÍODO DE 2005 A 2015	160
EXTRATOS DE PLANTAS DA CAATINGA NO CONTROLE BIOLÓGICO DE INSETOS: REVISÃO DE LITERATURA.....	164
RUBRICITOSE EM CÃES E GATOS: REVISÃO DE LITERATURA.....	168
POTENCIAL CITOTÓXICO DAS PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC) NO CARCINOMA CERVICAL.....	173
RESUMOS SIMPLES	177
SENSIBILIDADE DA <i>Escherichia coli</i> A AMPICILINA EM PACIENTES COM INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO: UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	178
Ppel, CrataBL, CfePL: APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DE LECTINAS BIOATIVAS ISOLADAS DE PLANTAS	179
A PREVALÊNCIA E VARIÁVEIS SOCIODEMOGRÁFICAS RELACIONADAS COM A AUTOMEDICAÇÃO	180
ANÁLISE DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA.....	181
ANÁLISE DOS OVÓCITOS DO <i>Phragmatopoma caudata</i> UTILIZANDO A TÉCNICA HISTOLÓGICA DO PAS.....	182
APLICAÇÕES DA FARMACOGENÉTICA NAS RESPOSTAS MEDICAMENTOSAS: UMA REVISÃO	183
ASPECTOS DA FISIOPATOGENIA DO <i>Demodex canis</i> : REVISÃO DE LITERATURA.....	184
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE B-LAPACHONA E OXIMA DO LAPACHOL SOBRE ISOLADOS CLÍNICOS DE MRSA	185
ATIVIDADE TOXICOLÓGICA DO RESÍDUO PULVERIZADO DE <i>Andira parviflora</i> SOBRE LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i>	186

AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DOS PINENOS EM CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANO	187
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS ISOLADOS SOBRE <i>Staphylococcus aureus</i>	188
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Syagrus coronata</i>	189
AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE DERIVADOS DA REAÇÃO MORITA- BAYLIS-HILLMAN NA LINHAGEM TUMORAL K562.....	190
AVALIAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DE <i>Byrsonima gardineriana</i>	191
AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO DERIVADO TIAZOLIDÍNICO SF-34 NO METABOLISMO LIPÍDICO HEPÁTICO DE CAMUNDONGOS LDLR-/-	192
AVALIAÇÃO LARVICIDA DE EXTRATO ETANÓLICO DE <i>Portulaca pilosa</i> SOBRE LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i>	193
AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE <i>Aspidosperma pyriformium</i> SOBRE LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i>	194
AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE <i>Morinda citrifolia</i> Linn. SOBRE LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i>	195
BIOENGENHARIA E SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS NO PRÉ-TRATAMENTO DA LIGNINA PARA A OBTENÇÃO DE MAIORES RENDIMENTOS ENERGÉTICOS	196
BIOSSENSORES E SUAS APLICABILIDADES NA ÁREA DA SAÚDE	197
PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DO MELANOMA EM CAVIDADE ORAL: REVISÃO DE LITERATURA.....	198
SINTOMATOLOGIA DO NEURILEMOMA ESPINAL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA.....	199
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE <i>Ximenia americana</i> L. (OLACACEAE) FRENTE BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA	200
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE <i>Ximenia americana</i> L. (OLACACEAE)	201
DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE <i>Ximenia americana</i> L. (OLACACEAE) FRENTE ESPÉCIES BACTERIANAS	202
DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE <i>Ximenia americana</i> L. (OLACACEAE)	203
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cantinoa Mutabilis</i>	204
CONCENTRAÇÃO DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS TOTAIS EM FRUTOS DE <i>Libidibia ferrea</i> MICORRIZADA E CULTIVADA EM CAMPO POR 20 MESES	205
DIAGNÓSTICO DA SÍFILIS PELO TESTE DE FLOCULAÇÃO NÃO TREPONÊMICO E SEU IMPACTO SOCIAL: UMA REVISÃO.....	206
DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DO CARCINOMA SÓLIDO GRAU II EM CADELA: RELATO DE CASO.....	207
DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DO CARCINOMA TÚBULO-PAPILAR SIMPLES GRAU III EM GATA: RELATO DE CASO	208
DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DO LINFOMA DE CÉLULAS PEQUENAS EM CÃO: RELATO DE CASO	209
DINHEIRO COMO POTENCIAL VETOR PARA ESTABELECIMENTO DE INFECÇÕES	210
ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DA FOLHA DE <i>Aspidosperma pyriformium</i>	211

ESTUDOS DE DOCKING DE MONOTERPENOS E COMPOSTOS RELACIONADOS COM POTENCIAL REPELENTE CONTRA <i>Aedes aegypti</i>	212
FERMENTAÇÃO SUBMERSA PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS POR FUNGOS FILAMENTOSOS ESTOCADOS NA MICOTECA URM.....	213
EFEITOS DO ESTRESSE POR SEPARAÇÃO MATERNA NA LACTAÇÃO SOBRE COMPORTAMENTO ALIMENTAR.....	214
FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES AUMENTAM OS TEORES DE FÓSFORO EM FRUTOS DE <i>Libidibia ferrea</i> ESTABELECIDO EM CAMPO.....	215
INFLUENCIA DA ALIMENTAÇÃO E MICROBIOMA INTESTINAL NAS DOENÇAS AUTOIMUNES.....	216
LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA: RELEVÂNCIA DOS ACHADOS CITOGENÉTICOS	217
NÍVEIS DE EXPRESSÃO DE KLF2 E KLF4 EM RECÉM-NASCIDOS COM MICROCEFALIA INFECTADOS POR ZIKA	218
PERFIL BACTERIANO EM SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS, ANTES E DEPOIS DA DESINFECÇÃO, NA UTI (HU-UNIVASF)	219
PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE CANDIDEMIA EM NEONATOS: UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	220
PERSPECTIVAS DO USO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO NA FOTOINATIVAÇÃO DE <i>Staphylococcus aureus</i>	221
PITIRÍASE VERSICOLOR, MICOSE DE GRANDE IMPORTÂNCIA CLÍNICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	222
POLIMORFISMOS GENÉTICOS NO RECEPTOR DE TSH ASSOCIADO AO HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO: UMA REVISÃO.....	223
PONTOS QUÂNTICOS CATIONICOS PARA AVALIAÇÃO DE CARGAS ELÉTRICAS DE MEMBRANAS ERITROCITÁRIAS	224
POTENCIAL PARA BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO POR ACTINOBACTÉRIAS ORIUNDAS DE SOLO RIZOSFÉRICO DA CAATINGA	225
PRÉ FERMENTAÇÃO LIQUÍDA DE L-ASPARAGINASE PROLONGADA POR ISOLADOS FÚNGICOS ESTOCADOS DA MICOTECA URM – UFPE.....	226
PREPARAÇÃO DO EXTRATO DE <i>Hibiscus sabdariffa</i> PARA USO NA REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN EQUINO	227
PRODUÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS EM FRUTOS DE PAU-FERRO MICORRIZADO E ESTABELECIDO EM CAMPO	228
SURVIVINA COMO POTENCIAL BIOMARCADOR PARA O CÂNCER.....	229
PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA CHALCONA: UM INTERMEDIÁRIO SINTÉTICO DE COMPOSTOS BIOATIVOS	230

RESUMOS EXPANDIDOS

ESTUDO DA NEUTRALIZAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOQUÍMICAS DA PEÇONHA DE *Bothrops leucurus* SUBMETIDAS AO EXTRATO BRUTO DE *Stryphnodendron fissuratum* MART. (LEGUMINOSA E MIMOSOIDEAE)

Renatta Priscilla Ferreira Silva¹; Emmanuel Viana Pontual¹; Jeine Emanuele Santos da Silva¹; Fábio de Souza Mendonça¹ e Marliete Maria Soares da Silva¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal

E-mail: renattaprisilla2905@outlook.com

RESUMO

Acidentes com serpentes peçonhentas representam um problema de saúde pública com incidência mundial de 2,5 milhões de casos por ano. O tratamento convencional é a administração do soro antiofídico, que neutraliza os danos teciduais e apesar de sua alta eficiência apresenta importantes efeitos colaterais. Nesse sentido, a capacidade neutralizante de compostos de origem vegetal sobre peçonhas de serpentes tem sido avaliada. Este trabalho investigou o potencial neutralizante do extrato de sementes de *Stryphnodendron fissuratum* sobre as atividades de proteases totais em peçonha de *Bothrops leucurus*. Sementes de *S. fissuratum* foram secas em estufa e moídas para obtenção de um pó. Em seguida, 100g de pó foram solubilizados em 750 mL de solução etanol/água 70% (v/v) durante 94 horas, após as quais o conteúdo foi percolado a uma vazão de 30 gotas/minuto. O efeito do extrato de *S. fissuratum* sobre as atividades de proteases totais, foi avaliado utilizando o substrato azocaseína. O extrato de *S. fissuratum* causou redução das atividades de proteases totais. Em conclusão, o extrato de *S. fissuratum* foi capaz de neutralizar a atividade da peçonha de *B. leucurus*, revelando-se fonte de potenciais compostos antiofídicos.

Palavras chave: *Stryphnodendron fissuratum*; *Bothrops leucurus*; *Proteases totais*.

INTRODUÇÃO

Anualmente são registrados aproximadamente 20.000 óbitos de um total de 421.000 acidentes com serpentes em todo o mundo, caracterizando um problema de saúde pública (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010). Em geral, a picada de serpentes do gênero *Bothrops* (jararacas) é caracterizada em elevado dano tecidual local induzido por mionecrose, edema, hemorragia e infiltrado celular; choque hipovolêmico e alterações na coagulação sanguínea, ocasionando incoagulabilidade sanguínea por defibrinogenação. Em casos graves, os acidentados podem apresentar hemorragias em órgãos equidistantes do local da picada (coração, pulmões, rins, intestinos e cérebro), gengivorragia, hematúria, hematêmese e insuficiência renal aguda (CARDOSO et al, 2009) sendo a hemorragia um dos efeitos mais evidentes no acidente botrópico (KAMIGUTI et al., 1991). *Bothrops leucurus* é uma serpente de médio porte, sendo uma das principais responsáveis por acidentes e cuja peçonha possui 89,9% de proteínas, altos níveis dos íons (LIRA DA SILVA, et al. 2009). A peçonha desta espécie apresenta atividade fibrinogenolítica, proteolítica, hemorrágica e edemaciante e baixa atividade coagulante quando comparado com *B. jararaca*, que é um veneno de referência nacional para produção de soros anti-botrópicos (SANCHEZ et al., 1992). Nos casos em que ocorre acidente ofídico, o tratamento preconizado pelo Ministério da Saúde é a administração endovenosa do soro antiofídico (WEN, 2003).

Devido a esta série de efeitos indesejados, existe uma busca por tratamentos que possam complementar ou ser uma alternativa à atual soroterapia para neutralização dos efeitos biológicos e toxicológicos em vítimas de acidentes com serpentes peçonhentas (DE PAULA, 2009). Uma das alternativas que vem sendo estudada é a utilização de extratos de plantas como agente neutralizante da peçonha. Pois muitas delas foram identificadas como capazes de neutralizar os efeitos do envenenamento ofídico, sendo esta capacidade atribuída a classe de constituintes ativos, incluindo flavonóides, alcalóides, liguninas, taninos e outras (SOARES *et al.*, 2004). O gênero *Stryphnodendron* está presente na região sulamericana, e é considerado tipicamente brasileiro (OCCHIONI, 1990). Apesar de seu reconhecido efeito tóxico, pouco se sabe sobre o potencial farmacológico de *Stryphnodendron fissuratum*.

Sendo assim esse trabalho foi motivado a ser realizado utilizando a peçonha de uma das principais causadoras de acidentes ofídicos no Estado de Pernambuco, *Bothrops leucurus*, e, como agente neutralizador, o extrato bruto das sementes de *Stryphnodendron fissuratum*. Visando à ação do extrato hidroalcoólico de *S. fissuratum* sobre atividade proteolítica total da peçonha de *B. leucurus*, uma vez que esse extrato pode ser apontado como uma potente alternativa de tratamento dos acidentes ofídicos.

MATERIAIS E METODOS

A atividade proteolítica total da peçonha de *B. leucurus* foi determinada de acordo com Azeez *et al.* (2007). O efeito do extrato de sementes de *S. fissuratum* (50 µl, 0,25 a 0,75 mg) foi determinado em presença de uma alíquota da peçonha (5 µl, 0,4 mg/mL) em NaCl 0,15 M pela adição do substrato azocaseína a 0,6% (p/v, 50 µl). 300 µl de tampão fosfato de sódio 0,1 M a pH 7,5 contendo 100 µL de Triton X-100 0,1% (v/v) foram adicionados e, em seguida, foi efetuada incubação a 37°C por 3 h. A reação foi interrompida pela adição de 200 µL de ácido tricloroacético 10% (v/v), imediatamente incubada a 4 °C por 30 min e depois centrifugada (9000 g, 10 min). A absorbância do sobrenadante a 366 nm foi determinada. Uma unidade de atividade de protease correspondeu à quantidade de enzima que promove um aumento de 0,01 na absorbância. O controle correspondeu à atividade proteolítica da peçonha na ausência do extrato de sementes. Os ensaios foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Proteases são enzimas que catalisam reações de hidrólise em que proteínas são o substrato. A síntese e a degradação de proteínas são processos interdependentes e essenciais ao metabolismo celular. Esses processos estão envolvidos na reciclagem e em todas as mudanças quantitativas e qualitativas das proteínas nas células. No teste da Atividade Proteolítica sobre Azocaseína observou-se a inibição da atividade de proteases da peçonha de *B. leucurus* pelo extrato de sementes de *S. fissuratum* (Figura 1).

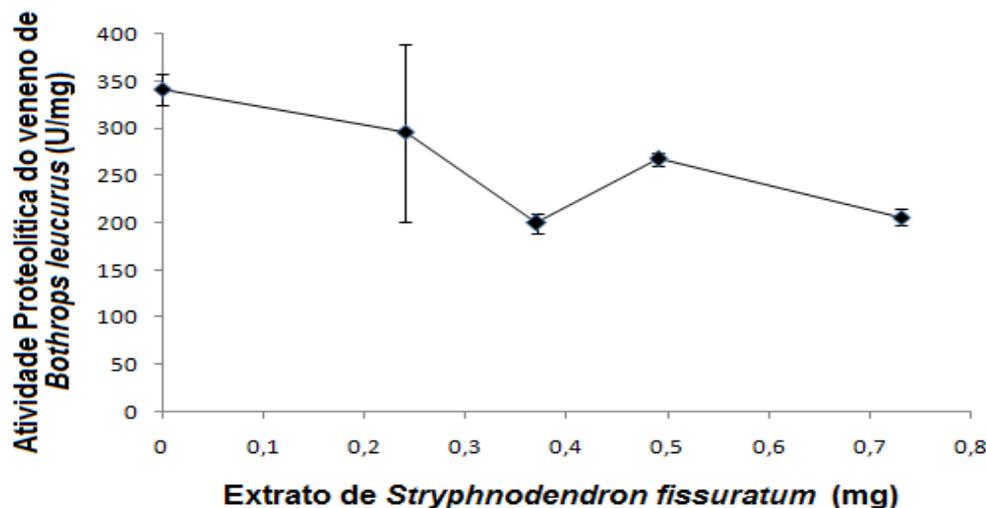


Figura 1. Efeito do extrato hidroalcolólico de sementes de *S. fissuratum* sobre a atividade proteolítica total da peçonha de *B. leucurus*.

CONCLUSÃO

O extrato hidroalcolólico de sementes de *S. fissuratum* foi capaz de neutralizar a atividade da peçonha de *B. leucurus* quanto às atividades de proteases totais. Estes resultados apontam o extrato de sementes de *S. fissuratum* como potencial fonte de compostos antiofídicos. Diante do exposto concluímos que esse extrato vegetal pode ser considerado um potente agente antiofídico. Todavia testes adicionais de toxicidade deverão ser realizados.

REFERÊNCIAS

- AZEEZ, A., SANE, A.P., BHATNAGAR, D., NATH, P. Enhanced expression of serine proteases during floral senescence in *Gladiolus*. *Phytochemistry*, v. 68, p. 1352–1357, 2007.
- CARDOSO, J.L.C. & BRANDO, R.V. Acidentes por animais peçonhentos: clínica e tratamento. São Paulo, Editora Santos. 1982.
- DE PAULA; CISNE, R. Efeito de extratos vegetais sobre atividades biológicas do veneno da serpente *Lachesis muta* / Rafael Cisne de Paula. – Niterói [s. n.], 2009.
- KAMIGUTI, A. S.; CARDOSO, J. L. C.; THEAKSTON, R. D. G. e SANO-MARTINS, I. S. Coagulopathy and haemorrhage in human victims of *Bothrops jararaca* envenoming in Brazil. *Toxicon* Vol 29 (8), pp. 961-72. 1991.
- LIRA DA SILVA, R.M.; MISE, Y.F.; CASAIS E SILVA, L.L.; ULLOA, J.; HAMDAN, B.; BRAZIL, T. Serpentes de Importância Médica no Nordeste do Brasil. *Gazeta Médica da Bahia*, 79 (Supl.1):7-20. 2009.
- OCCHIONI, E. M. L. Considerações taxonômicas no gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae-Mimosoideae) e distribuição geográfica das espécies. *Acta Botânica Brasileira*, v.4, n.2, p.153-158, 1990.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010

SANCHEZ, E.F., FREITAS, T.V., FERREIRA-ALVES, D.L., VELARDE, D.T., DINIZ, M.R., CORDEIRO, M.N., AGOSTINI-COTTA, G., DINIZ C.R. Biological activities of venoms from South American snakes. *Toxicon*, Oxford, v. 30, n. 1, p. 95-103. 1992.

SOARES, A. M.; JANUARIO, A. H.; LOURENÇO, M. V.; PEREIRA, A. M. S.; PEREIRA, P. S. Neutralizing effects off Brazilian plants aginst snake venoms. *Drugsfuture*, Barcelona, v.29, n.11, p. 1105- 1117. 2004.

WEN, F.H. Soroterapia. In: Cardoso, J.L.C (Coord.) *Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. São Paulo: Sarvier, 2003. p.p. 381.

INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO DE SEMENTES DE *Stryphnodendron fissuratum* (MIMOSOIDEAE) COM PROPRIEDADES NEUTRALIZANTES SOBRE A PEÇONHA DE *Bothrops leucurus*

Renatta Priscilla Ferreira Silva¹; Emmanuel Viana Pontual¹; Jeine Emanuele Santos da Silva¹; Fábio de Souza Mendonça¹ e Marliete Maria Soares da Silva¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Ciências Biológicas, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal

E-mail: renattaprisilla2905@outlook.com

RESUMO

Este trabalho descreve a investigação: 1. da eficiência de modelo de fitotoxicidade no monitoramento da virulência da peçonha de *B. leucurus*; e 2. do efeito do extrato de sementes de *S. fissuratum* sobre a ação fitotóxica da peçonha. Sementes de *S. fissuratum*, foram secas e um extrato foi obtido em solução de etanol/água 70% (v/v). Sementes de *Lactuca sativa* (alface) foram colocadas para germinar em placas de Petri forradas com papel filtro embebido com solução de peçonha de *B. leucurus* (2 mg/mL). Após incubação (72 h, 28 ± 5° C), foram determinados índices de germinação das sementes (IG) e de crescimento relativo (ICR) das radículas. Estes ensaios foram repetidos em presença do extrato de sementes. O tratamento com a peçonha não alterou os valores de IG, mas resultou em forte redução no crescimento das radículas (ICR = 25,87 ± 1,2%) quando comparado ao grupo controle (ICR = 100 ± 5,92%), indicando que o modelo de fitotoxicidade foi eficiente em monitorar a virulência da peçonha. O extrato de sementes de *S. fissuratum* reduziu significativamente a fitotoxicidade da peçonha, resultando em valores de ICR iguais a 32,84 ± 1,0 % e 45,27 ± 3,08 % nas concentrações de 2,5 e 5 µL/mL, respectivamente. Em conclusão, o modelo de fitotoxicidade para plântulas foi eficiente para monitorar virulência da peçonha de *B. leucurus*, a qual foi reduzida em presença do extrato de sementes de *S. fissuratum*.

Palavras-chave: Anti-peçonha, Alface, Fitotoxicidade, Jararaca

INTRODUÇÃO

O gênero *Bothrops* no Brasil é considerado o principal causador de acidentes ofídicos, contribuindo com 90,3% do total de acidentes com serpentes peçonhentas (FUNASA, 2001). O gênero *Stryphnodendron* está presente na região sulamericana, e é considerado tipicamente brasileiro. Leguminosas pertencentes à Família Fabaceae, subfamília Mimosoidea, as espécies desse gênero têm-se destacado pela intoxicação causada em ruminantes de pequeno e grande porte e também pela presença de moléculas bioativas com ação medicinal (ALBUQUERQUE et al., 2011).

Os testes de toxicidades têm sido comumente realizados em animais experimentais, todavia cada vez mais a utilização de espécies vegetais específicas pode ser uma alternativa confiável para avaliar o potencial tóxico de muitos compostos e contribuir como uma espécie de triagem ou até mesmo observação inicial da ação das toxinas presentes em peçonhas. Os testes de toxicidade

utilizando organismos vegetais foram constatados por vários pesquisadores que realizaram de forma concomitante modelos testes animais e vegetais (PALMIERI et al., 2016).

Sendo assim, este trabalho descreve: I. A avaliação da eficiência do modelo de fitotoxicidade para plântulas no monitoramento da virulência da peçonha de *Bothrops leucurus* e II. A investigação do efeito do extrato de sementes de *S. fissuratum* sobre a ação fitotóxica da peçonha.

MATERIAIS E MÉTODOS

A toxicidade da peçonha de *Bothrops leucurus* foi avaliada utilizando sementes de *Lactuca sativa* (alface), seguindo a metodologia descrita por Tiquia et al. (1996). Água mineral foi usada como controle negativo e uma solução de dicromato de potássio (1%, m/v) foi utilizada como controle positivo. Cada ensaio, realizado em duplicata, correspondeu a uma placa de Petri (90 x 15 mm) onde 15 sementes foram colocadas sobre papel filtro embebido com 2,0 ml de peçonha (0,2 mg/mL) ou das soluções controle. Em seguida, as placas foram vedadas com Parafilm® para evitar a evaporação e incubadas por 72 horas a $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Após esse período, o número de sementes germinadas em cada placa, bem como o comprimento das radículas foram registrados. Os ensaios foram considerados válidos quando a germinação foi igual ou maior que 90% no controle negativo. O índice de crescimento relativo (ICR) e o índice de germinação (IG) foram calculados de acordo com as equações: $IG = (SGT/SGC) \times 100$ e $ICR = (CRT/CRC) \times 100$; onde: SGT é o número de sementes germinadas nas amostras teste e SGC o número de sementes germinadas no controle; CRT é o comprimento da radícula no tratamento teste; CRC é o comprimento da radícula no controle negativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A toxicidade de *S. fissuratum* para bovinos tem sido reportada, o que pode acarretar em apresentar complicações decorrentes de úlceras multifocais no abomaso, hemorragias gastrintestinais e necrose hepática (Rodrigues et al. 2005). Contudo, nosso Grupo de Pesquisa tem trabalhado na prospecção de componentes vegetais com potencial antiofídico e, interessadamente, apesar da reconhecida toxicidade para bovinos, nossos resultados prévios revelaram que o extrato de *S. fissuratum* não interferiu na sobrevivência de fêmeas de camundongos swiss (*Mus musculus*). Ainda, demonstramos que este extrato reduziu a letalidade da peçonha sobre esses animais. Em adição, nossos trabalhos anteriores demonstraram que o extrato hidroalcoólico de *S. fissuratum*, contendo taninos hidrolisáveis, flavonoides, derivados cinâmicos, fenilpropanoides, triterpenos, esteroides e saponinas, foi eficiente na neutralização das propriedades enzimáticas (fosfolipásica, coagulante e proteolítica) da peçonha de *Bothrops leucurus* (Silva, 2010). Neste trabalho, nós avaliamos a eficiência do modelo de fitotoxicidade para plântulas no monitoramento da virulência da peçonha de *Bothrops leucurus* e o efeito do extrato de sementes de *S. fissuratum* sobre a ação fitotóxica dessa peçonha. O ensaio de fitotoxicidade utilizando sementes de *L. sativa* revelou que a peçonha não interferiu significativamente ($p = 0,35$) na quantidade de sementes germinadas em relação ao controle negativo (Figuras 1A e 1C), contudo, forte ação tóxica da peçonha foi refletida pelo crescimento das plântulas significativamente ($p = 0,003$) reduzido quando comparado ao controle negativo (Figuras 1B e 1C). Quando a peçonha foi previamente incubada com o extrato de sementes de *S. fissuratum*, foi possível detectar a redução do seu potencial fitotóxico, refletido pelo maior crescimento das plântulas (Figuras 1B e 1C).

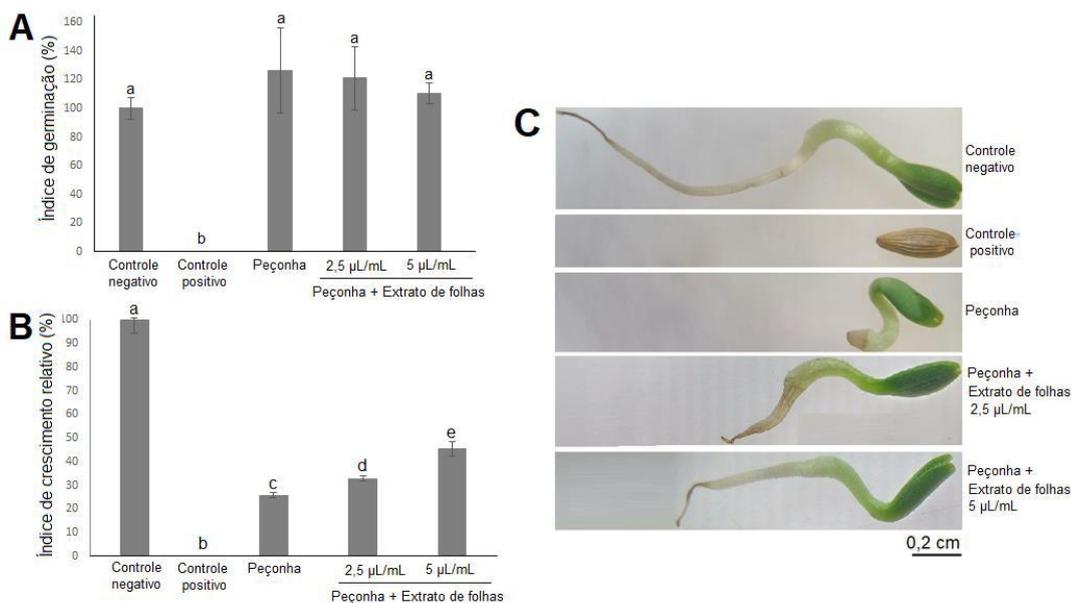


Figura 1. Efeito do extrato de sementes de *S. fissuratum* na fitotoxicidade da peçonha de *B. leucurus*. (A) Índices de germinação (%) de sementes de *L. sativa*. (B) Índices de crescimento relativo das plântulas de *L. sativa*. (C) Aspecto das plântulas de *L. sativa* germinadas a partir de sementes tratadas com o controle negativo (água mineral), controle positivo (dicromato de potássio 1% m/v), peçonha de *B. leucurus* (0,2 mg/mL) e peçonha previamente incubada com o extrato de sementes de *S. fissuratum* a 2,5 e 5 µL/mL.

A ausência de germinação no controle positivo assegura que os testes foram realizados em condições adequadas para esta investigação e juntos os resultados relatados aqui indicam que ensaio utilizando sementes de *L. sativa* foi eficiente para monitorar a virulência da peçonha de *B. leucurus*. Adicionalmente, esses dados, juntamente com nossos relatos prévios, corroboram com a hipótese de que o extrato de sementes de *S. fissuratum* apresenta um interessante potencial antiofídico.

CONCLUSÃO

O extrato de sementes de *S. fissuratum* incubado com a peçonha de *B. leucurus* reduziu o potencial virulento da mesma contribuindo para a hipótese de esse extrato vegetal pode ser considerado um potente agente antiofídico. Todavia testes adicionais de toxicidade deverão ser realizados.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, R.F.; NETO-E. J.; FREITAS S.H.; DÓRIA R.G.S.; SAURINI N.O.; COLODEL E.M.; CORREA-R. F.; MENDONÇA F.S. Abortion in goats after experimental administration of *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae). *Toxicon* 58 (2011) 602–605. 2011
- FUNASA. Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos. Ministério da Saúde. 2 ed. Brasília. p.14, 2001.
- OCCHIONI, E. M. L. Considerações taxonômicas no gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae-Mimosoideae) e distribuição geográfica das espécies. *Acta Botânica Brasileira*, v.4, n.2, p.153-158, 1990.

PALMIERI, M. J. et al. Cytogenotoxic Effects of Spent Pot Liner (SPL) and Its Main Components on Human Leukocytes and Meristematic Cells of *Allium cepa*. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 227, n. 5, p. 156, 23 maio 2016.

Rodrigues A.S., Chaves N.S.T., Damasceno A.D., Trindade B.R., Martins G.H.L. & Arantes A.F. 2005. Aspectos clínicos da intoxicação experimental de bovinos pelos frutos de *Stryphnodendron fissuratum* Mart. ("rosquinha"). *Ciênc. Anim. Bras.* 6:119-126.

Silva, N.L.A., Miranda, F.A.A., Conceição, G.M., 2010. Triagem fitoquímica de plantas do cerrado, da área de proteção ambiental do Inhamun, Caxias, Maranhão. *Scientia Plena* 6.

TIQUIA, S.M., Tam, N.F.Y., Hodgkiss. I.J., 1996. Effects of composting on phytotoxicity of spentpig-manure sawdust litter. *Environ. Pollut.* 93, 249-256.

AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DO SILDENAFIL (VIAGRA®) EM MODELO DE ENCEFALOMIELEITE AUTOIMUNE EXPERIMENTAL (EAE)

Crislayne Gonçalo de Santana Marinho¹; Shyrlene Meiry da Rocha Araújo¹; Eduardo Pereira Duarte da Silva¹; Wilma Helena de Oliveira¹, Maria Eduarda Rocha França¹; Deniele Bezerra Lós¹; Christina Alves Peixoto¹

¹ Laboratório de Ultraestrutura, Instituto Aggeu Magalhães – IAM/FIOCRUZ-PE

RESUMO

Introdução: A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença autoimune de caráter inflamatório que atinge o Sistema Nervoso Central, sua causa é desconhecida e as opções terapêuticas não são eficazes para a cura da doença. Em trabalhos anteriores, o sildenafil (Viagra®) tem se demonstrado ser uma alternativa terapêutica eficaz. **Objetivos:** Investigar os efeitos do sildenafil na neuroinflamação em modelo experimental da EM. **Metodologia:** Camundongos C57BL/6 foram divididos em três grupos: controle, EAE e EAE tratado com sildenafil. Os grupos EAE foram induzidos a encefalomielite autoimune experimental (EAE) e apenas o grupo 3 foi tratado com 25mg/Kg de sildenafil, 2 vezes ao dia por 21 dias. Os sintomas clínicos foram avaliados durante todo experimento e ao final, foi realizado a eutanásia. Foi realizado a citometria de fluxo para marcação de células inflamatórias (CD45 e T CD4⁺) e de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-17); imunohistoquímica para análise de reatividade astrogliar (GFAP) no hipocampo. **Resultados e discussão:** Os resultados mostraram que o sildenafil diminuiu significativamente os sintomas clínicos dos animais tratados em relação ao grupo EAE. Atuou diminuindo o recrutamento de células CD45 e T CD4⁺ e as citocinas TNF- α e IL-17 no hipocampo dos animais quando comparado com o grupo EAE. Na imunomarcação para GFAP o sildenafil foi capaz de diminuir a ativação dos astrócitos comparado com o grupo EAE. **Conclusão:** Conclui-se que o sildenafil mostrou ter efeito anti-inflamatório, uma vez que inibiu o surgimento dos sintomas mais graves e diminuiu a expressão das citocinas inflamatórias no hipocampo de camundongos induzidos com EAE.

Palavras-Chaves: esclerose múltipla, neuroinflamação, sildenafil, EAE.

INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Brasileira de Esclerose Múltipla (ABEM), a esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória crônica de caráter autoimune do Sistema nervoso central (SNC), com prevalência em adultos jovens de 20 a 40 anos. Até o momento não existe cura para a EM e as alternativas terapêuticas utilizadas para amenizar os sintomas são ineficazes e muitas apresentam efeitos colaterais severos. Por isso, se faz necessário estudos para descobertas de novas alternativas para seu tratamento.

O Sildenafil (Viagra®) é um inibidor potente e seletivo da fosfodiesterase-5 (PDE5). Este fármaco apresenta ação vasodilatadora já conhecida e parece possuir propriedades anti-inflamatórias contra algumas doenças, inclusive a EM. Esses relevantes resultados nos conduziram a investigar melhor os efeitos do Sildenafil sobre os sintomas inflamatórios apresentados na EM em modelo animal. Objetivou-se Avaliar os efeitos do Sildenafil sobre o processo da neuroinflamação em modelo de encefalomielite autoimune experimental (EAE).

METODOLOGIA

Obtenção dos animais e divisão dos grupos experimentais

Foram utilizados camundongos C57BL/6, fêmeas, adultos jovens (6-8 semanas), obtidos do Biotério de Experimentação Animal do Instituto Aggeu Magalhães (IAM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) e do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório (CEMIB/UNICAMP), mantidos em condições S.P.F. (specific-pathogen free) com água e ração autoclavados ad libitum, tendo a temperatura e o fotoperíodo em ciclos de 12 horas controlados durante todo o experimento. Os animais foram separados em 3 grupos com 10 animais por grupo (n=10): Grupo 01: Controle negativo – animal saudável; Grupo 02: Controle positivo - Imunizado com o antígeno MOG 35-55/ EAE; Grupo 03: Imunizado com o MOG 35-55 + tratamento com sildenafil 25 mg/kg. Os protocolos foram executados de acordo com as normas da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) das instituições IAM (nº87/2015) e UNICAMP (nº4394-1/2016).

Indução do EAE e tratamento com Sildenafil

Os camundongos foram previamente anestesiados com injeção i.p. de ketamina (115mg/kg) e xilazina (10mg/kg), em seguida os animais dos grupos 2 e 3 foram imunizados com 200µg do peptídeo MOG35-55 (MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK) (GenScript) por via subcutânea (s.c.) emulsionado em igual volume com o adjuvante completo de Freund (CFA, Sigma), contendo 4mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis* (H37RA, Difco). Em concomitância foi administrado nos animais por via intraperitoneal (i.p.) 240 ng/animal de *Toxina Pestussis* (Sigma), sendo reaplicada após 48h. Nos animais do 3º grupo foi também administrado, após 48 horas da indução do EAE, o Sildenafil 25mg/Kg (Viagra, Pfizer) por via s.c. diluído em salina 0,9%, duas vezes ao dia por um período de 21 dias. O peso foi avaliado diariamente para o ajuste necessário da dose mantendo a concentração. A evolução e severidade da EAE e do tratamento foi avaliada por vinte e três dias após a imunização de acordo com sistema de escore clínico na escala de 0-5, onde: 0, não doente; 1, perda de tônus da cauda; 2, fraqueza dos membros posteriores; 3, paralisia dos membros posteriores; 4, fraqueza ou paralisia dos membros anteriores juntamente com os posteriores; 5, moribundo ou morto. Após o esquema terapêutico, os animais foram anestesiados e posteriormente eutanasiados. O cérebro foi removido para análises morfológicas, moleculares e parâmetros imunológicos.

Imunohistoquímica para marcação de GFAP

Os cortes em parafina (5 µm) de cérebro foram incubados em BSA 1%/1h e H₂O₂ 3%/30 min. Foi feito o pré-tratamento dos cortes com tampão citrato a 20 mM, pH 6,0 à 100°C por 30 min. Em seguida, foram incubados com o anticorpo primário antiGFAP, à 4°C, overnight. Em seguida, os cortes foram incubados por 1 hora com anticorpo secundário IgG, conjugado com biotina. A reação imunohistoquímica foi amplificada usando o Kit Dako LSAB+System-HRP e revelada com 3'-3-diaminobenzidina (DAB) e contra-corada com hematoxilina. As lâminas foram montadas e visualizadas em microscópio de luz. Dez imagens da mesma ampliação (400 x) foram analisadas quantitativamente usando o software Gimp 2.8 (GNU Image Manipulation Program, plataformas UNIX).

Citometria de Fluxo para avaliação de IL-17, TNF-α, CD45 e CD4

Os hipocampus dissecados foram mecanicamente dissociados com um filtro de células (poros de 70 μm) e as células foram coletadas em placas de Petri com PBS frio. Para aumentar a produção de proteína intracelular, as células foram tratadas durante 3h a 37°C com 13-acetato de 12-miristato de forbol (PMA, 50 ng / mL, Sigma) e Ionomiacina (500 ng / mL). Brefeldin A (1 μg / mL) foi adicionado para evitar a liberação de proteínas pelas células. As amostras foram fixadas e permeabilizadas com tampões comerciais (Fixation / Permeabilization buffers, eBioscience, código de catálogo: 00-5521) de acordo com as instruções do fabricante, depois lavadas com PBS e incubadas com anticorpos já conjugados com os fluorocromos da seguinte forma: IL-17-PE, TNF α -APC, CD45Rpe-cy7 e CD4-percp-cy5.5. Foram adquiridos 30.000 eventos de cada amostra no citômetro de fluxo (FACS Canto, BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, EUA) e analisados no software FlowJo 10.0.5 (Tree Star Inc., Ashland, OR, EUA).

Análises estatísticas

Os resultados foram expressos como a média \pm desvio-padrão. Os valores foram analisados usando o software Graphpad Prism. Análise de variância de uma via (One-way - ANOVA) seguida do pós-teste de Bonferroni, Teste T não pareado (Unpaired test t), usado para comparar os dados dos grupos controle positivo e tratados. O valor de $P \leq 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

O sildenafil reduziu os sintomas clínicos induzidos pelo MOG 35-55

O sildenafil (25 mg/kg) foi capaz de retardar e diminuir a severidade dos sinais clínicos observados no escore clínico (figura 1A) e no peso (figura 1B).

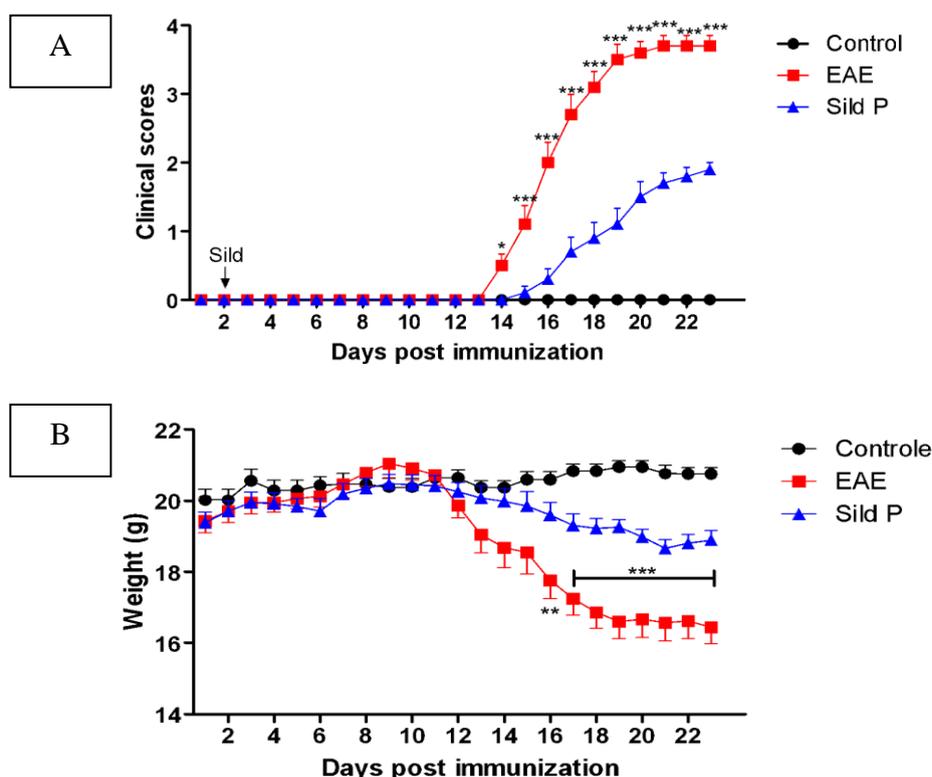


Figura 1: Gráfico representativo dos sintomas clínicos e pesos dos animais (A) Escore clínico x dias após imunização (B) Peso dos animais x dias após imunização. Valores apresentados como média \pm SEM (n=10/grupo). Dados analisados utilizando Two way ANOVA e Bonferroni post test. Significância estatística entre os grupos EAE e EAE+sild (* p <0,001).

O sildenafil diminuiu a proliferação de leucócitos infiltrantes do sistema imune no hipocampo

A Figura 2 mostra que no grupo EAE induzido com o MOG35-55 tratado houve uma diminuição de células CD45 (figura 2A) e de células T CD4⁺ infiltrantes (figura 2B). Observa-se, também, uma diminuição dos níveis de TNF- α (figura 2C) e IL-17 (figura 2D) produzidos pelas células T CD4⁺ no hipocampo do grupo tratado com sildenafil em comparação com o grupo sem tratamento.

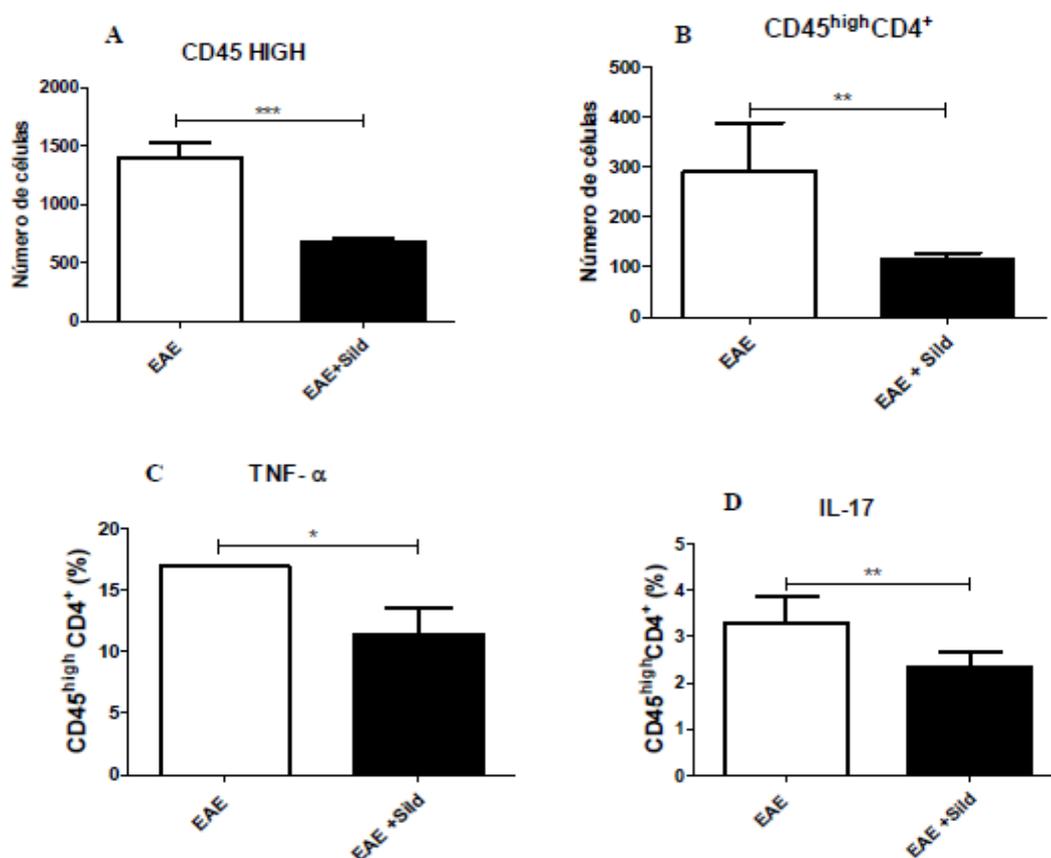


Figura 2: O tratamento com sildenafil diminuiu a infiltração de células CD45 e T CD4⁺, e também os níveis das citocinas TNF- α e IL-17 no hipocampo dos camundongos induzidos a EAE. Valores apresentados como média \pm SD (n=3/grupo). Os dados foram analisados utilizando one way ANOVA e Bonferroni post test. Comparações foram estatisticamente significativas entre os grupos EAE e EAE+sild (* p <0,05, ** p <0,01 e *** p <0,001).

O sildenafil diminuiu a ativação dos astrócitos

Através da marcação do GFAP, pode-se observar no grupo controle, células astrocíticas na sua forma quiescente. Enquanto no grupo EAE observa-se astrócitos com mais ramificações e mais espessos. Já no grupo tratado com o Sildenafil (25 mg/Kg) houve uma menor ativação desses astrócitos comparando com o grupo sem tratamento (Figura 3).

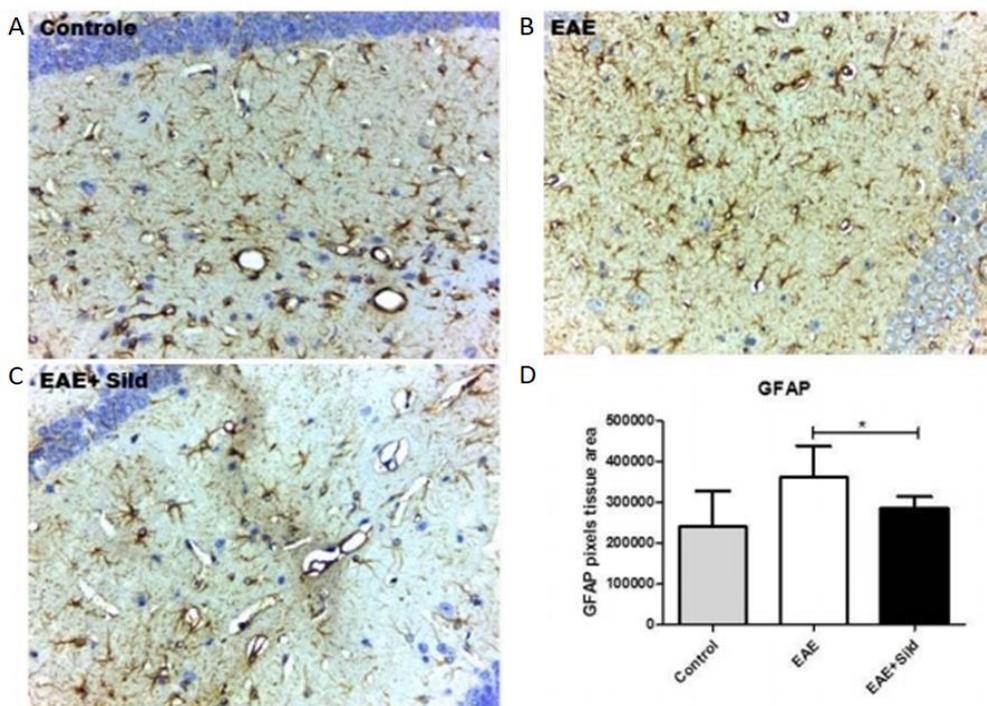


Figura 3: Imunohistoquímica para GFAP. (A) Grupo controle; (B) Grupo EAE; (C) Grupo EAE tratado com sildenafil; (D) Representação gráfica dos níveis de GFAP entre os três grupos. Foto obtida na Objetiva 40x. Os dados foram analisados utilizando o Teste T não pareado (Unpaired test t). Significância estatística entre os grupos EAE e EAE+sild (* $p < 0,05$).

CONCLUSÃO

Com esse estudo podemos concluir que o sildenafil mostra uma atividade anti-inflamatória, pois, melhorou os sintomas clínicos, a infiltração de células T ativadas e de citocinas inflamatórias. Podendo ser uma alternativa terapêutica para a EM.

REFERÊNCIAS

LUNA, Rayana Leal. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO SILDENAFIL SOBRE A PLACENTA EM UM MODELO DE PERDA GESTACIONAL INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEOS EM CAMUNDONGOS . 2013. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal de Pernambuco, [S.l.], 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/13331/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Rayana%20Luna.pdf>. Acesso em: 07 jul. 2018.

ANÁLISE DA COMPATIBILIDADE “IN VITRO” DO EXTRATO VEGETAL DE *Tabebuia aurea* E O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium anisopliae*

Jayelen Alves Ferreira¹; Lailana Brito de Oliveira Reis¹, Virginia Michelle Svedese¹

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, Pernambuco, Brasil.

RESUMO

O uso de agrotóxicos para o controle de pragas na agricultura tem proporcionado inúmeros problemas ambientais. Contudo, essas problemáticas têm influenciado no desenvolvimento de sistemas de cultivo sustentáveis, visando à obtenção de produtos diferenciados e menos dependentes do uso de defensivos agrícolas. Uma alternativa provável ao controle químico é o controle biológico com o uso de fungos entomopatogênicos, o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) se destaca para a utilização no controle biológico de pragas. Plantas com potencial inseticida também estão sendo estudadas, pois garantem uma minimização da poluição ambiental. O uso dos compostos bioativos de algumas plantas possui capacidade de agir como inseticidas naturais. Os estudos *in vitro* para análise dessa combinação (extrato e fungo) são fundamentais para a determinação de estratégias adequadas de uso dos fungos entomopatogênicos em um sistema de manejo integrado. O presente trabalho avaliou a ação do extrato vegetal de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) sobre os parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae*. O efeito dos extratos vegetais sobre o fungo *M. anisopliae* foi avaliado por meio da germinação, do crescimento vegetativo e da esporulação fúngica. O extrato vegetal não afetou o crescimento vegetativo das colônias de *M. anisopliae*, e a germinação de conídios do fungo não foi afetada pelas diferentes concentrações do extrato de *T. aurea*. Dessa forma, a espécie *M. anisopliae* se mostrou suscetível à ação do extrato vegetal em todas as três concentrações, apresentando um maior índice biológico (IB) em 5%, podendo ser considerado como uma estratégia em programas de manejo de pragas.

Palavras-chave: Controle biológico; Potencial Inseticida; Caatinga

INTRODUÇÃO

O uso intensivo e a utilização inadequada de produtos químicos na agricultura ocasiona o surgimento de problemas ambientais, causando desequilíbrio biológico, quando a ação ocorre em organismos não alvos (agentes de controle biológico), além de provocar danos à saúde de consumidores, produtores, animais, conforme a toxicidade ou os resíduos presentes após a aplicação. Como também, ocasionando o crescimento de população de pragas resistentes (MARANGONI; MOURA; GARCIA, 2012; SANTOS et al., 2013).

Uma alternativa provável ao controle químico é o controle biológico com o uso de fungos entomopatogênicos, sendo inimigos naturais presentes em ecossistemas agrícolas e naturais. Os esporos destes fungos aderem-se e penetram no hospedeiro pelo tegumento, podendo infectar diferentes estágios de desenvolvimento do hospedeiro, apresentando-se como uma característica interessante e própria desse grupo de organismo (ALVES, 1988; ALVES; LOPES, 2008; BUENO; BUENO, 2012). O fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) se destaca para a utilização no controle biológico de pragas devido a sua acessível produção em larga escala. No Brasil, utiliza-se esse fungo

para controle da cigarrinha da cana-de-açúcar (*Mahanarva posticata* Stal.) e cigarrinha-das-pastagens (*Deois flavopicta* Stal.) (FARIA; MAGALHÃES, 2001).

Estudos de plantas com potencial inseticida estão sendo pesquisadas, visando à minimização de problemas como a poluição ambiental e o desenvolvimento de resistência, ocasionados pela aplicação de agroquímicos. O uso dos compostos bioativos de algumas plantas é capaz de agir como inseticidas naturais (FAROOQ et al., 2011) sendo a repelência e embriotoxicidade características demonstradas pelos seus extratos usados contra insetos-praga de diferentes ordens (ANDRADE-FILHO et al., 2010; VIEIRA et al., 2009; VIEIRA et al., 2012).

Os estudos *in vitro* para análise dessa combinação (extrato e fungo) são fundamentais para a determinação de estratégias adequadas de uso dos fungos entomopatógenos em um sistema de manejo integrado, tendo em vista que as aplicações de produtos podem atuar nos micro-organismos, modificando, portanto sua ação. A pesquisa sobre a viabilidade e patogenicidade utilizando fungos entomopatogênicos, pode indicar a eficiência da aplicação no campo, com vistas ao controle do inseto-alvo (MAMPRIM, 2011).

OBJETIVO

Avaliar a compatibilidade “*in vitro*” do extrato vegetal de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) e o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*.

METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia, localizado na sede da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF-Campus Centro). As culturas de fungos entomopatogênicos foram procedentes da Micoteca URM do Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas/Universidade Federal de Pernambuco, as quais estão preservadas sob óleo mineral. Onde foi testada uma cultura, do gênero *Metarhizium* sp., utilizado no controle biológico.

Para obter o extrato vegetal, foi utilizada a espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso), as folhas foram coletadas das árvores presentes no Campus de Ciências Agrárias da UNIVASF, e transferidas para o laboratório de Microbiologia. As folhas foram lavadas em água corrente para remoção de impurezas e, posteriormente, lavadas com água destilada. Em seguida, o material botânico foram triturados e adicionados a 100 ml de água destilada esterilizada e acondicionados em vidro âmbar por 48 horas à temperatura ambiente para a obtenção dos extratos nas concentrações de 5, 10 e 15%, de acordo com Barbosa et al. (2007). Os extratos obtidos foram filtrados e acondicionados em frascos de vidro de âmbar até o momento de sua utilização.

O efeito dos extratos vegetais sobre as linhagens do fungo entomopatogênico (*M. anisopliae*) avaliou-se por meio da germinação de conídios, do crescimento vegetativo e da esporulação fúngica. O extrato foi adicionado ao meio BDA nas proporções 5, 10 e 15% e, em seguida, realizados os bioensaios de germinação de conídio, crescimento vegetativo e esporulação.

Para o teste de germinação de conídios, 0,1ml do extrato foi adicionado a uma suspensão de 108 conídios/ml. Após uma hora, 0,1mL de cada suspensão foram espalhadas, com o auxílio de alça de Drigalsky, em placas de Petri, contendo BDA, em três repetições. Em seguida, as placas foram incubadas em BOD (28±1°C e 80%±10% UR). Na testemunha, foi aplicada apenas a solução Tween 80 (0,05%). O percentual de germinação foi determinado contando-se 500 conídios (entre os

conídios germinados e os não germinados) por placa, 16 horas após a semeadura (ALVES & PEREIRA, 1998).

Para se estimar o crescimento micelial, disco de 50 mm da cultura fúngica foi transferido para a placa de Petri contendo o meio BDA adicionado de cada extrato vegetal nas proporções 5, 10 e 15%, em três repetições. Na testemunha, foi utilizado o meio BDA sem a presença do extrato vegetal. As placas foram incubadas em BOD (28±1°C e 80%±10% UR) e após 12 dias foi feita à mensuração do diâmetro da colônia, com auxílio de uma régua milimetrada. Para avaliar a esporulação fúngica, fragmentos (1cm²) das bordas de cada colônia foram transferidos para um tubo de ensaio contendo 10mL de solução Tween 80 (0,05%). Agitou-se a suspensão por aproximadamente dois minutos em vortex e, em seguida, quantificada em câmara de Neubauer.

Para se determinar a compatibilidade dos fungos aos extratos foi utilizada a fórmula proposta por Rossi-Zalaf et al. (2008), a qual determinou a toxicidade dos produtos: $IB = 47(CV) + 43(ESP) + 10(GERM) / 100$. Onde, CV é a porcentagem de crescimento vegetativo, ESP a porcentagem de esporulação e GERM a germinação, todos em relação à testemunha. Os valores do IB (índice biológico) para a classificação dos efeitos dos extratos sobre as linhagens são definidos como: tóxico de 0 a 41, moderadamente tóxico de 42 a 66 e compatível >66.

RESULTADOS

Os resultados mostraram que o extrato vegetal não afetou o crescimento vegetativo das colônias de *Metarhizium anisopliae*. A concentração de 15% apresentou um diâmetro maior, quando comparado com as demais concentrações. Na análise do número de conídios e sua viabilidade os extratos nas concentrações de 5% e 10% apresentaram os valores mais representativos, seguido pela concentração de 15 % (Tabela 1). Com isso, percebeu-se que a germinação de conídios do fungo não foi afetada pelas diferentes concentrações do extrato de *Tabebuia aurea*, demonstrando que o extrato não tem efeito na viabilidade do fungo.

Estudos realizados por Marques et al. (2004), analisaram o efeito de óleo de nim sobre o crescimento, esporulação e viabilidade dos fungos *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *P. farinosus* em diferentes concentrações deste óleo, e nos resultados a germinação dos conídios não foi afetada pelo óleo de nim, não causando efeito na viabilidade. Contudo, trabalhos que avaliem o efeito de extratos vegetais sobre estes fungos são bastante escassos na literatura.

Tabela 1. Diâmetro das colônias, número de esporos e porcentagem de esporos viáveis, produzidos por linhagens de *Metarhizium anisopliae* em meio BDA + diferentes concentrações do extrato aquoso de *Tabebuia aurea*.

Linhagens	Diâmetro da colônia (cm)				Número de conídios (x10 ⁶)				Viabilidade dos conídios (%)			
	0%	5%	10%	15%	0%	5%	10%	15%	0%	5%	10%	15%
URM 6104	4,95	4,2	4,3	4,7	7,2	8,6	7,1	6,3	85,5	83	83,5	73

A compatibilidade fúngica aos extratos vegetais avalia os parâmetros de ocorrência de um atraso na germinação e se há uma inibição do crescimento vegetativo (SILVA et al., 2005). A espécie *M. anisopliae* se mostrou suscetível à ação do extrato vegetal de craibeira em todas as três concentrações, apresentando um maior índice biológico (IB) em 5% (Tabela 2).

Tabela 2. Classificação da compatibilidade das linhagens de *Metarhizium anisopliae* com diferentes concentrações do extrato aquoso de *Tabebuia aurea*.

Linhagens	5% classificação	10% classificação	15% classificação
URM 6104	100, 94 Compatível	92,99 Compatível	68,41 Compatível

Em um estudo semelhante, Mamprim et al. (2013) analisou o efeito de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae*, os extratos utilizados mostraram-se compatíveis com o fungo.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que o extrato vegetal de *Tabebuia aurea*, nas concentrações avaliadas em laboratório, é compatível com *Metarhizium anisopliae*, podendo ser considerado assim, como uma estratégia em programas de manejo de pragas. Contudo, é necessário que ainda ocorram mais estudos relacionados a essa associação para que seja estabelecido o uso adequado.

REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B.; LOPES, R.B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 414 p.
- BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F. Integrated pest management as a tool to mitigate the pesticide negative impact into the agroecosystem: the soybean example. In: JOKANOVIC, M. **The impact of pesticides**. Cheyenne: Academy Publish, p. 165-190, 2012.
- FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 22, n. 1, p. 18-21, 2001.
- FAROOQ, M.; JABRAN, K.; CHEEMA, Z.A.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K.H.M. The role of allelopathy in agricultural pest management. **Pest Management Science**, v.67, p. 493-506, 2011.
- MARANGONI, C.; DE MOURA, N. F.; GARCIA, F. R. M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Ciências Ambientais**, v. 6, n. 2, p. 92-112, 2013.
- MAMPRIM, A. P.; ALVES, L. F. A.; DA SILVA PINTO, F. G.; FORMENTINI, M. A., MARTINS, C. C.; BONINI, A. K. Effect of natural pesticides and plant extracts on biological parameters of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1451-1466, 2013.
- MARQUES P. R.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, T. G. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, 2004.
- ROSSI-ZALAF, L. S.; et al. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, p.279-302. In ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (26d). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba, FEALQ, 414p, 2008.

SANTOS, P. L. D.; PRANDO, M. B.; MORANDO, R.; PEREIRA, G. V. N.; KRONKA, A. Z. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, p. 2562-2576, 2013.

SILVA, R. Z.; NEVES, P. M. de O. J.; SANTORO, P. H. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Seminal: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, p. 305-312, 2005.

VIEIRA, L.; PASCOLI, I.; BORTOLI, S.A.; LOPES, L.M.X. Efeito de extratos de *Aristolochia lagesiana* (Aristolochaceae) sobre a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, p. 245-250, 2009.

VIEIRA, J.R.C.; LEITE, R.M.P.; LIMA, I.R.; NAVARRO, D.A.F.; BIANCO, E.M; LEITE, S.P. Oviposition and embryotoxicity of *Indigofera suffruticosa* on early development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2012: ID741638, 2012.

ANÁLISE CITOTÓXICA DE *Sargassum polyceratum* Montage COLETADA NO LITORAL PERNAMBUCANO FRENTE À CÉLULAS ERITROCITÁRIAS

Elizabete Regina Silva Lucena dos Santos¹; Rafael Jorge Santos Aracati Padilha¹; Ana Luiza Pereira de Lima¹; Ricardo Yara² e Cláudia Sampaio de Andrade Lima¹.

¹Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife-PE, Brasil

²Departamento de Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife-PE, Brasil

RESUMO

Introdução: As macroalgas do gênero *Sargassum* são facilmente encontradas em diversas regiões litorâneas, dentre essas, o Nordeste brasileiro também faz parte das regiões de sua ocorrência. Conhecida pelas suas propriedades e graças ao seu potencial biológico e nutricional, elas são utilizadas e manipuladas pela indústria farmacêutica e alimentícia para a fabricação de diversos produtos. **Objetivo:** O atual trabalho avaliou o comportamento do extrato hidroalcoólico da macroalga, oriunda do litoral pernambucano, frente a células eritrocitárias de carneiro em teste de fragilidade osmótica. **Metodologia:** O teste foi realizado expondo extratos de *Sargassum* spp frente aos eritrócitos em concentrações de 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL. **Resultados e discussão:** O extrato de *Sargassum* spp demonstrou baixa toxicidade quando exposto ao sangue, não causando danos às células eritrocitárias. **Conclusão:** Diante desse contexto, afirma-se que essa alga pode ser utilizada para diversos fins industriais, já que este não apresentou atividade citotóxica, abrindo assim, possibilidades para o aprofundamento de pesquisas detalhadas.

Palavras Chave: *Sargassum* spp, fragilidade osmótica, células eritrocitárias.

INTRODUÇÃO

Os produtos marinhos têm seu potencial biológico e tecnológico reconhecido à várias décadas., Na literatura já existem citações de atividades biológicas atribuídas às algas marinhas. São utilizadas como antiparasitárias, antivirais, antifúngicas, antioxidantes. As algas já têm sido utilizadas em diversos continentes na indústria de alimentos devido as suas propriedades nutricionais, assim como na farmacêutica devido as suas práticas curativas. As algas demonstraram grande variação na composição química (proteínas, lipídios, carboidratos e vitaminas) que estão diretamente relacionados a vários fatores ambientais como luz, sazonalidade, temperatura, salinidade (FRIKHA et al ., 2011).

O *Sargassum* spp. é um tipo de macroalga bentônica encontrada que ocorre em diversas regiões que se estendem desde águas costeiras do Caribe ao sudoeste da Flórida como no Nordeste brasileiro. Essa alga age como um biofiltro que pode reduzir a poluição no ambiente marinho e acumula substâncias tóxicas e reduz assim os efeitos nocivos do ecossistema onde elas habitam. A alga também pode ser utilizada na alimentação assim como suplementos e em vários medicamentos modulando a resposta nociceptiva (SANTOS et al., 2015).

Existem muitos testes que determinam a atividade citotóxica de um extrato uma vez que estes podem conter ainda compostos citotóxicos em sua constituição. Um teste habitual na rotina laboratorial é o teste da fragilidade osmótica que tem como finalidade conferir a resistência dos

glóbulos vermelhos em situações de hemólise que podem ser ocasionados por metabolitos secundários (MOUSINHO et al., 2008).

Diante do que foi abordado este trabalho tem como objetivo principal conferir o potencial citotóxico de uma macroalga marrom coletada no litoral Pernambuco e analisar seu potencial *in vivo* segundo o teste de fragilidade osmótica.

METODOLOGIA

Coleta, armazenamento e produção do extrato bruto

As coletas foram realizadas nas praias de: Maracaípe (8°32'23.0" S 35°00'07.6"W), no litoral Pernambucano, em maré baixa 0,1m. Após a coleta, a alga foi acondicionada em sacos e caixas de isopor para o laboratório de Biofísica Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e depois lavados em água corrente para a retirada de detritos e outras impurezas. Elas foram dispostas em para secar em estufa à 42°C com circulação forçada de ar. Depois de completamente secas, foram trituradas, pesadas e embebidas em solução hidroalcoólica a 70%, permanecendo por sucessivas 48 horas até esgotamento, onde foram preparados os extratos hidroalcoólicos. Em seguida, o extrato fluido foi submetido à destilação à vácuo em evaporador rotativo (RV 10 Control da IKA), com temperatura máxima de 45° C e disposto em dessecador até peso constante.

Ensaio de Fragilidade Osmótica

A técnica de fragilidade osmótica, baseou-se na metodologia descrita por Darcie e Lewis (1975) com modificações. O ensaio foi realizado em quadruplicata, nas concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5 µg/mL diluídas em solução isotônica de cloreto de sódio a 0,9%. Três das repetições da quadruplicata receberam 75µg de sangue de carneiro (Multi Diagnóstica) em cada concentração, para verificação da hemólise e, uma das repetições não recebeu o sangue de carneiro para verificação da coloração do extrato diluído. Amostras de sangue de carneiro comercial foram expostas ao extrato, durante 30 minutos. Em seguida, as soluções com as amostras foram centrifugadas à 2500 rpm, por 3 minutos a 25°C. O controle negativo foi realizado com solução isotônica de cloreto de sódio a 0,9% e o controle positivo com água destilada, os quais receberam os mesmos procedimentos empregados nas amostras testes. Em seguida, o sobrenadante foi submetido a leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-vis 1800 a um comprimento de onda de 540nm. Também foram realizados esfregaços em lâminas de vidro com coloração panótica. O precipitado resultante foi observado para verificação da morfologia íntegra ou hemolítica dos eritrócitos, através de microscópio óptico conectado a Câmera Leica DFC-280 com aumento de 1000x. O Percentual de hemólise foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{Hemólise (\%)} = \frac{\text{Abs da coloração} - \text{abs da amostra} \times 100}{\text{Abs controle}}$$

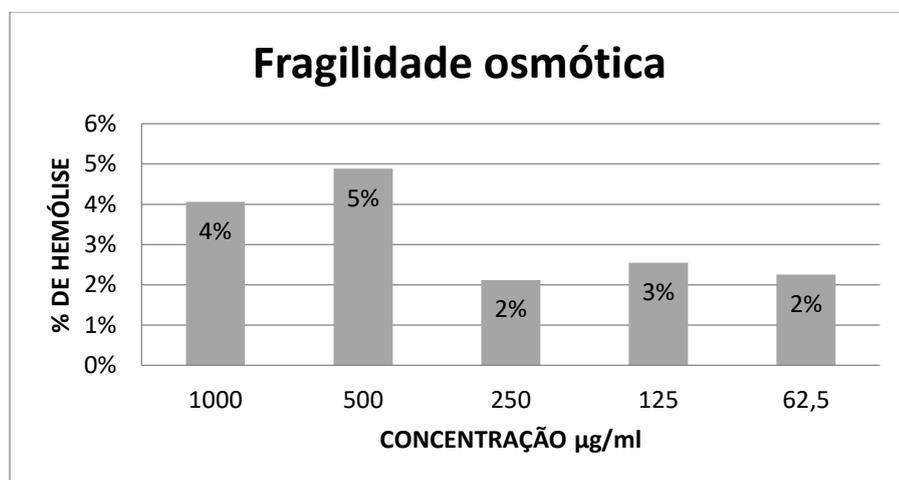
RESULTADOS

Os resultados obtidos no trabalho para avaliação de citotoxicidade frente a células eritrocitárias de carneiro estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Sendo a fragilidade osmótica frente aos extratos expressas em porcentagem.

Fragilidade osmótica					
Espécie/ concentração	1000 µg/ml	500 µg/ml	250 µg/ml	125 µg/ml	62,5 µg/ml
<i>Sargassum polyceratium</i> Montage	4%	5%	2%	3%	2%

O maior percentual citotóxico obtido dentre os extratos brutos avaliados foi de 5%. Considerando que, segundo Sperandio et al. (2010) a ação hemolítica deve ser considerada alta apenas quando as porcentagens atingem valores superiores a 40% e baixa quando esses valores são inferiores a 10% (**Gráfico 1**), pode-se concluir que o extrato de *sargassum spp.* não apresentou citotoxicidade frente aos eritrócitos de carneiro.



Na análise das lâminas do precipitado eritrocitário em presença do extrato de *Sargassum spp* (**Figura 1**), observa-se que não foi encontrada nenhuma alteração morfológica nas membranas eritrocitárias, indicando que o extrato de *Sargassum spp* não causou qualquer dano às células eritrocitárias.

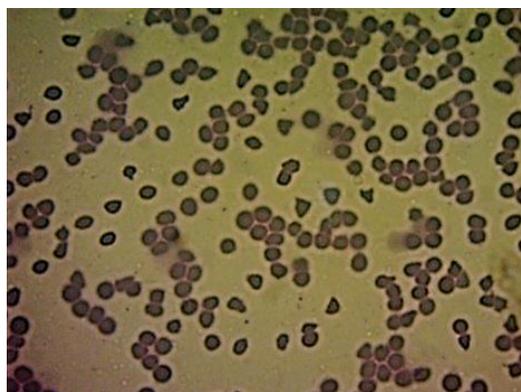


Figura 1: Fotomicrografia de eritrócitos íntegros em contato com extrato de *Sargassum spp*, na concentração de 1000 µg/mL.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, foi comprovada a ausência da toxicidade do extrato de *Sargassum spp.* frente à células eritrocitárias, obtendo uma porcentagem de hemólise menor que 10%, se enquadrando em um baixo teor de fragilidade, demonstrando que este material pode ser potencialmente útil para uso industrial como matéria prima de cosméticos ou outra aplicação.

REFERÊNCIAS

Dacie J.V.; Lewis S.M. Practical Hematology. 5th Edition. Churchill Livingstone. London. 629 pp. 1975.

Frikha, F.; Kammoun, M.; Hammami, N.; Mcchirgui, R.A.; Belbahri, L.; Gargouri, Y.; Miled, N.; Ben-Rebah, F. Chemical composition and some biological activities of marine algae collected in Tunisia. *Ciencias Marinas* (2011), 37(2): 113–124

Mousinho, K. C.; Correia, M. B. L.; Silva, J. O. da; Magnata, S. de L. P.; Souza, I. A. de.; Catanho, M. T. J. de A. Effect of the extract of *Ricinus communis* L. on the osmotic fragility, labeling of red blood cells with Technetium-99m and morphology of the cells. *Braz. arch. biol. technol.* vol.51 no.6 Curitiba Nov./Dec. 2008.

Santos, A. K. F. de; Fonseca, D. V. da; Ssalgado, P. R. R.; Muniz, V. M.; Torres, P. de A.; Lira, N. S.; Dias, C. da S.; Pordeus, L. C. de M.; Barbosa-Filho, J. M.; AlmeidaLMEIDA, R. N. Antinociceptive activity of *Sargassum polyceratum* and the isolation of chemical components. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 25 (2015) 683-689.

MODIFICAÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADE DE LEVANA MICROBIANA

Edmilson Clarindo de Siqueira¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada – Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE.

RESUMO

Levana é um homopolímero à base de frutose com potencial biotecnológico emergente. É obtido a partir de sacarose por uma ampla gama de micro-organismos e algumas espécies de plantas. Tornou-se um biopolímero versátil devido à grande variedade de propriedades físico-químicas e biológicas inerentes a sua estrutura molecular. Levana pode sofrer modificações estrutural para ampliar ainda mais suas propriedades funcionais e, conseqüentemente, suas aplicações. Os métodos de modificação química são amplamente utilizados para aumentar a bioatividade da levana, que ocorre pela adição ou substituição de grupos funcionais. Esta revisão resume os principais métodos de modificação molecular da levana, bem como os impactos nas suas propriedades físico-químicas e bioatividade.

Palavras-Chave: Levana, Modificação química, Aplicação, Bioatividade.

1. INTRODUÇÃO

Levana é uma homopolímero à base de frutose que ocorre naturalmente, sendo um polissacarídeo atóxico e biologicamente ativo. Possui distribuição diversificada na natureza, ocorrendo em plantas, fungos e bactéria. É sintetizada no ambiente extracelular através da ação da enzima levanasacarase, uma enzima que atua sobre a sacarose catalisando reações de transglicosilação para formar o polímero (SRIKANTH et al., 2015). Sua variedade estrutural, incluindo peso molecular e grau de ramificação, bem como suas propriedades funcionais, como biocompatibilidade e biodegradabilidade, faz da levana um polímero com grande potencial com aplicações em produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos (ONER; HERNÁNDEZ; COMBIE, 2016).

Por outro lado, a maioria dos polissacarídeos microbianos tem sido utilizada na forma modificada para melhorar suas propriedades funcionais. A modificação molecular é a modificação na estrutura do polímero por meios químicos, físicos e biológicos para obter um número maior de derivados estruturais (LI et al., 2016). A modificação química é o método mais utilizado, sendo considerada uma ferramenta importante para aumentar as propriedades bioativas dos polissacarídeos e ampliar significativamente suas aplicações. Este método consiste em alterar as estruturas dos polissacarídeos através da introdução de grupos substituintes para reforçar a bioatividade original, bem como gerar novas bioatividades funcionais (LI et al., 2016).

A presença de unidades hidroxílas na molécula de levana tem sido explorada quimicamente para preparar derivados poliméricos com propriedades exclusivas (ONER; HERNÁNDEZ, COMBIE, 2016). Derivados de levana, como os levana sulfatos, fosfatos e acetatos foram empregados na medicina como agentes anti-AIDS e em processamento de alimentos como aditivo

alimentar (SRIKANTH et al., 2015). Além disso, a modificação de levana por acetilação, fosforilação e benzoilação melhoram significativamente as atividades antioxidantes e antitumorais da mesma (LIU et al., 2012). Recentemente, levana sulfatada apresentou elevada atividade anticoagulante semelhante a heparina (ERGINER et al., 2016).

As aplicações recentes de levana na indústria, biotecnologia e medicina têm demandado por estruturas moléculas com propriedades específicas únicas. Ao nosso melhor conhecimento, não foram relatados ainda estudos sobre métodos de modificação molecular deste polímero.

2. OBJETIVO

Este artigo objetiva descrever os principais métodos de modificação química da levana, bem como os impactos nas propriedades físico-químicas e na bioatividade deste polímero.

3. METODOLOGIA

Esta pesquisa teve caráter exploratório e qualitativo, constou com revisão da literatura nas plataformas SciELO, PubMed, Web of Science e Google Scholar através estudos que relatassem os métodos de modificação química de levana e as aplicações dos seus derivados. A lista de referências destes artigos e os artigos de revisão relevantes foram revisados e as referências finais foram selecionadas para inclusão nesta revisão, com base em sua relevância.

4. MODIFICAÇÕES QUÍMICAS DE LEVANA E SUAS APLICAÇÕES

A maioria dos processos de modificação química de levana depende da multiplicidade de grupos nucleófilos presentes ao longo da sua estrutura sob a forma de grupos hidroxilas. Dentre os processos de modificação química destaca-se oxidação com periodatos (NaIO_4 ou KIO_4), carboximetilação, sulfatação, fosforilação, acetilação, entre outros (LI et al., 2016).

4.1 Oxidação por periodato

A oxidação da levana com o periodato é vista como uma forma de introduzir grupos aldeídos em sua estrutura, os quais são mais reativos para *N*-nucleófilos, como carbamatos, hidrazinas e as aminas em geral (VINA; KARSAKEVICH; BEKERS, 2001). O processo reacional ocorre em um sistema 3,4-diol de cada unidade D-frutosil pela cisão seletiva das ligações químicas entre os átomos de carbono C3 e C4, que podem ser facilmente reduzidos com boro hidreto de sódio (NaBH_4).

A levana oxidada tem sua estrutura espacial ampliada pelo o aumento da distância entre os átomos C3 e C4 e o ângulo C5-O-C2 no resíduo furanosil, implicando em um ponto estratégico da atividade biológica (SARILMISER; ONER, 2014).

O grau de oxidação de levana depende muito de sua massa molar e tem papel essencial na bioatividade das estruturas resultantes. Sarilmiser e Oner (2014) investigaram a atividade anticancerígena de L e OL (com taxa crescente de aldeídos na sua estrutura) em linhagens celulares de adenocarcinoma do pulmão humano (A549), carcinoma hepatocelular do fígado humano (HepG2/C3A), adenocarcinoma gástrico humano (AGS) e adenocarcinoma da mama humano (MCF-7). Verificou-se que a OL mostrou maior atividade anticâncer que a L contra todas as linhagens de células de câncer e, este aumento, foi diretamente proporcional ao aumento do grau de oxidação (SARILMISER; ONER, 2014).

4.2 Carboximetilação

A carboximetilação geralmente realizada por meio de suspensão do biopolímero com ácido cloroacético em condições alcalinas. A reação segue o protocolo de eterificação de Williamson, onde a amostra é tratada com uma base forte (NaOH) que desprotona os grupos hidroxil livres para formar alcóxido. Por fim, o aducto assim gerado sofre substituição nucleofílica com ácido monocloroacético para dar o derivado carboximetilo (LI et al., 2016).

Levana carboximetila (CML) tem sido utilizada como matriz para de liberação controlada de fármacos. Taberner et al. (2017) utilizaram levana e CML como veículos para entrega do fármaco antitumoral 5-fluorouracilo (5-FU). A liberação do fármaco foi de 45-75% (em 23 h) para o sistema levana/5-FU, enquanto que apenas uma baixa porcentagem da droga foi liberada no sistema CML/5-FU. A baixa porcentagem da droga liberada no sistema CML/5-FU é devido à formação de ligações amidas que evita a liberação rápida da droga (TABERNERO et al., 2017).

A CML também possui atividade prebiótica significativamente maior que levana livre. Husseiny et al. (2015), observaram que a quantidade de *Lactobacillus lactis* MCAIN B01357 crescida em meio com CML foi superior à cultivada em meio com levana livre. Portanto, a modificação química por carboximetilação é considerada uma importante rota para melhorar as propriedades e atividades biológicas.

4.3 Sulfatação

Não existe um método único para modificação de polissacarídeos por sulfatação. Os métodos mais utilizados incluem o ácido clorossulfônico em piridina (CSA-Py), complexo de SO₃ com piridina (Py·SO₃) e ácido sulfúrico (LI et al., 2016). A sulfatação de levana tem sido comumente realizada pelo método do CSA-Py.

A SL tem sido estudada como agente antitumoral, antioxidante e anticoagulante. Abdel-Fattah et al. (2012) estudaram a atividade anticancerígena de SL e seu mecanismo na via apoptótica. Verificou-se que SL induziu a apoptose por via intrínseca em linhagem de HepG2. Além disso, SL apresentou forte atividade antioxidante pela eliminação de radicais livres.

A SL também tem sido explorada como agente anticoagulante alternativo à heparina (ERGENIR et al., 2016). A SL mostrou efeito de inibição na via intrínseca de coagulação do sangue em consequência do prolongamento do tempo elevado de tromboplastina parcial ativada (APTT). Nos testes de antitrombina, SL diminui a atividade do Fator Xa com o aumento da concentração. Verificou-se que acima de certa concentração, SL apresenta melhor atividade inibidora que a heparina (ERGENIR et al., 2016).

4.4 Fosforilação

Existem vários métodos para a fosforilação de polissacáridos, como os que utilizam o ácido fosfórico ou anidrido fosfórico e aqueles que usam fosfatos a partir de materiais de baixo custo como hidrogenofosfato de sódio, o di-hidrogenofosfato de sódio e o tripolifosfato de sódio (LI et al., 2016).

A levana fosforilada (PL) foi obtida por Liu et al. (2012) a partir do tratamento da levana com uma mistura de formamida (FA) e tributilamina e, posteriormente, com ácido polifosfórico. A atividade antitumoral de PL foi avaliada em células de carcinoma gástrico humano (BGC-823) a

uma concentração de 400 µg/ml. A taxa de inibição da PL sobre as células BGC-823 foi de 95,50%, comparada à levana livre (55,37%). A maior atividade antitumoral de PL foi atribuída à alta afinidade do grupo fosfato com receptores de células imunes, ativando a resposta imunitária (LIU et al., 2012).

Costa et al. (2013) sintetizaram fosfonato de levana (PhL) usando tricloreto de fósforo (PCl₃) e piridina (Py). O PhL foi usado com quitosana (CHI) para formar filmes por automontagem eletrostática.

Os filmes de PhL-CHI apresentaram uma resistência adesiva notável de 2,5 MPa, comparado ao controle formado por alginato e quitosana (ALG-CHI), que foi de 0,9 MPa. A adesividade dos filmes foi investigada com uma linha de fibroblastos de ratos (L929) e verificou-se que os filmes de PhL-CHI possuíam melhor adesão (110 células/mm²) em comparação com os filmes de ALG-CHI (20 células/mm²), corroborando o uso de levana na engenharia de tecidos (COSTA et al., 2013; ERGENIR et al., 2016).

4.5 Acetilação

A acetilação é principalmente utilizada para o tratamento de ramificações em moléculas de polissacáridos, objetivando melhorar a solubilidade do polímero (LI et al., 2016). A marcha experimental consiste na dissolução do polissacárido em algum solvente como H₂O, DMSO ou FA, seguida da adição gota a gota de *N*-bromosuccinimida em acetato (NBS/Ac₂O) ou solução de Py/Ac₂O (LI et al., 2016).

Pelo método de NBS/Ac₂O, Liu et al. (2012) obtiveram com sucesso derivados de levana acetilados (AL) e determinaram sua atividade antioxidante *in vitro*. Na concentração de 1 mg/l, o poder de redução de AL (0,493) foi superior ao da levana na forma livre (0,238) e de outros derivados, tais como PL (0,359) e levana benzoilada (0,312). A atividade antioxidante aumentada em AL pode ser justificada pela presença de grupos funcionais COOH, que são bons doadores de elétrons e, portanto, influenciam na atividade antioxidante do polissacarídeo (LI et al., 2016).

5. CONCLUSÃO

Os métodos de modificação química, em sua maioria, ampliam a atividade antioxidante e antitumoral de levana, dentre os quais as modificações com grupos sulfatos e acetiladas são os mais comuns. Derivados de levana na forma sulfato, fosfato e acetato possuem atividade anti-SIDA, enquanto que os derivados carboximetil e dialdeído têm sido frequentemente reportados como material para formulações de sistemas de liberação controlada de fármacos.

6. REFERÊNCIAS

- ABDEL-FATTAH AM, GAMAL-ELDEEN AM, HELMY WA, ESAWY MA. Antitumor and antioxidant activities of levan and its derivative from the isolate *Bacillus subtilis* NRC1aza. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, 2012. p. 314-322.
- COSTA RR, NETO AI, CALGERIS I, CORREIA CR, PINHO ACM, FONSECA J, ONER ET, MANO JF. Adhesive nanostructured multilayer films using a bacterial exopolysaccharide for biomedical applications. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 1, 2013. p. 2367-2374.
- ERGINER M, AKCAYA A, COSKUNKAN B, MOROVA T, RENDE D, BUCAK S, BAYSAL N, OZISIK R, EROGLU MS, AGIRBASLI M, EBRU ONER ET. Sulfated levan from *Halomonas*

smyrnensis as a bioactive, heparin-mimetic glycan for cardiac tissue engineering applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 149, 2016. p. 289-296.

HUSSEINY SM, SHEREF FA, AMER H, ELSAKHAWY TA. Biological Activity of chemically modified levan produced by moderately halophilic *Chromohalobacter salexigens* KT989777. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v. 05, n. 03, 2015. p. 812-822.

LI S, XIONG Q, LAI X, LI X, WAN M, ZHANG J, YAN Y, CAO M, LU L, GUAN J, ZHANG D, LIN Y. Molecular modification of polysaccharides and resulting bioactivities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, 2016. p. 237-250.

LIU J, LUO J, YE H, ZENG X. Preparation, antioxidant and antitumor activities in vitro of different derivatives of levan from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 3, 2012. p. 767-772.

ONER ET, HERNÁNDEZ L, COMBIE J. Review of levan polysaccharide: from a century of past experiences to future prospects. **Biotechnology Advances**, 2016. p. 1-18.

SARILMISER HK, ONER ET. Investigation of anti-cancer activity of linear and aldehyde-activated levan from *Halomonas smyrnensis* AAD6T. **Biochemical Engineering Journal**, v. 92, 2014. p. 28-34.

SRIKANTH R, REDDY CHSSS, SIDDARTHA G, RAMAIAH MJ, UPPULURI KB. Review on production, characterization and applications of microbial levan. **Carbohydrate Polymers**, v. 120, 2015. p.102-14.

TABERNERO A, GONZÁLEZ-GARCINUÑO A, SÁNCHEZ-ÁLVAREZ JM, GALÁN MA, DEL VALLE ENM. Development of a nanoparticle system based on a fructose polymer: stability and drug release studies. **Carbohydrate Polymers**, v. 160, 2017. p. 26-33.

VINA I, KARSAKEVICH A, BEKERS M. Stabilization of anti-leukemic enzyme L-asparaginase by immobilization on polysaccharide levan. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 11, 2001. p. 551-558.

ASPECTOS BIOLÓGICOS E ATIVIDADES TERAPÊUTICAS DAS LECTINAS: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Luís André de Almeida Campos¹, Sérgio Dias da Costa Júnior¹, João Victor de Oliveira Santos¹, Isabella Macário Ferro Cavalcanti^{1,2}

¹Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - Universidade Federal de Pernambuco (LIKA-UFPE)

²Laboratório de Microbiologia e Imunologia – Centro Acadêmico de Vitória - Universidade Federal de Pernambuco (CAV-UFPE)

Introdução: As lectinas são proteínas amplamente encontradas na membrana e/ou no interior de células, podendo ser facilmente extraídas dos microrganismos, plantas e animais. Estas moléculas participam de diversos processos biológicos intracelulares e extracelulares e possuem diversas atividades biológicas. **Objetivo:** O presente estudo teve como objetivo demonstrar os aspectos biológicos e as aplicações terapêuticas das lectinas a partir da realização de uma revisão de literatura. **Metodologia:** Foi realizado um levantamento bibliográfico de artigos científicos nas bases de dados *ScienceDirect*, *Pubmed* e *Medline*, utilizando como critério de inclusão os artigos mais citados entre os anos de 2010 a 2018 que demonstravam aspectos biológicos das lectinas e/ou as atividades terapêuticas que essas proteínas apresentam. **Resultados:** As lectinas estão envolvidas no reconhecimento célula-célula, interações da matriz extracelular, fertilização gamética, crescimento celular, sinalização celular, adesão e migração celular, apoptose, imunomodulação, interação parasito-hospedeiro, indução mitogênica e homeostase. Além disso, apresentam atividades de interesse terapêutico, como antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiparasitária, anti-inflamatória, antitumoral e como biomarcador. Estudos recentes têm evidenciado o potencial uso de algumas lectinas como antimicrobianos e biomarcadores diagnóstico de interesse clínico, além da utilização dessas proteínas associadas a sistemas nanobiotecnológicos. **Conclusão:** Assim, é possível perceber as propriedades biológicas e o potencial terapêutico das lectinas, como agentes antibacterianos, antibiofilmes, antiparasitários e imunomoduladores tornando essas moléculas ferramentas úteis para a aplicação na indústria farmacêutica.

Palavras-chave: Lectinas, glicopeptídeos, propriedades biológicas, atividades terapêuticas.

INTRODUÇÃO

O termo lectina é usado para designar uma classe de proteínas de origem não imune, que se distinguem de outras macromoléculas pela sua capacidade de aglutinar células e pela seletividade na interação pelos carboidratos (FIGUEIRÔA et al., 2017). Vantagens como estabilidade prolongada, disponibilidade comercial e uma capacidade de sondar diferentes superfícies estruturais, associada a ampla gama de lectinas disponíveis, resultou nos últimos anos em diversos estudos quanto as variadas propriedades biológicas destas proteínas (SANTOS et al., 2014).

As lectinas demonstraram atividade frente a microrganismos, nematoides e predadores herbívoros. Além desses usos, as lectinas apresentam outros efeitos biológicos importantes como seu envolvimento na morfogênese tecidual e papel na regulação das funções fisiológicas e metabólicas (GARDERÈS et al., 2015). Portanto, tornam-se necessárias pesquisas e divulgação de estudos relacionados à descoberta de novas lectinas, assim como, das propriedades biológicas e aplicações terapêuticas dessas proteínas.

OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo demonstrar os aspectos biológicos e as atividades terapêuticas das lectinas a partir da realização de uma revisão de literatura.

METODOLOGIA

Foi realizado um levantamento de artigos nas bases de dados Google Scholar, ScienceDirect, Pubmed e Medline, utilizando como critério de inclusão os artigos completos que relatavam aspectos biológicos das lectinas e avaliação de suas aplicações terapêuticas, publicados nas línguas portuguesa e inglesa entre os anos de 2010 a 2017.

REVISÃO

Aspectos biológicos das lectinas

Lectinas são proteínas que apresentam a capacidade de se ligar aos carboidratos de forma específica e reversível, sem promover alterações na estrutura covalente do ligante. Essas proteínas possuem um ou mais domínios não-catalíticos reconhecedores de carboidratos (DIAS et al., 2015). O domínio de reconhecimento de carboidratos interage através de ligações fracas, do tipo Van der Waals e ligações de hidrogênio, com os carboidratos simples como os monossacarídeos e dissacarídeos, e complexos como os polissacarídeos, glicoproteínas e glicolípídeos, de modo a identificar as variações entre as cadeias dos açúcares e promover o reconhecimento entre elas para formar as ligações (PROCÓPIO et al., 2017).

As lectinas podem ser classificadas quanto à origem, a estrutura e a especificidade de ligação a um determinado carboidrato. Quanto à origem, as lectinas podem ser vegetais, animais, fúngicas e bacterianas (IORDACHE et al., 2015). Quanto à estrutura é possível classificá-las em a) merolectinas, lectinas que apresentam um único domínio de ligação aos carboidratos e a incapacidade de aglutinação celular ou de precipitação de glicoconjugados, b) hololectinas, estas exibem dois domínios idênticos ou mais de dois domínios homólogos para ligação com os carboidratos, sendo capazes de aglutinar e/ou precipitar glicoconjugados, c) quimerolectinas, lectinas formadas pela fusão proteica de duas cadeias diferentes, onde uma cadeia expõe atividade catalítica ou alguma atividade biológica diferente da habilidade de ligação aos carboidratos, e d) superlectinas, essas proteínas possuem no mínimo dois domínios de ligação a carboidratos não idênticos, exibindo a capacidade de identificar carboidratos diferentes (FIGUEIRÔA et al., 2017). As lectinas também podem ser classificadas com base no tipo de monossacarídeo ligante, podendo ser lectinas ligadoras de manose, lectinas ligadoras de galactose/N-acetilgalactosamina, lectinas ligadoras de N-acetilglucosamina, lectinas ligadoras de fucose e lectinas ligadoras de ácido N-acetilneuramínico (KUMAR et al., 2012).

As lectinas são utilizadas em diversas aplicações biomédicas e estão sendo estudadas intensivamente (HEYMANN et al., 2015). Dentre elas algumas se destacam, a fito-hemaglutinina (PHA) e a Concanavalina A (ConA), ambas são relevantes devido as suas atividades pró-inflamatórias e/ou anticâncer (GARDÈRES et al., 2015). A PHA é uma lectina específica de N-acetilgalactosamina e foi uma das primeiras lectinas identificadas por estimular a mitose progressiva de linfócitos (COELHO et al., 2017). A ConA, é uma proteína extraída da semente do feijão-deporco, apresenta especificidade para manose/glicose e foi a primeira lectina disponível comercialmente. ConA atua como agonista do receptor de insulina e é regularmente usada como controle positivo em estudos de imunomodulação que envolvem outras lectinas (HEYMANN et al.,

2015). Além dessas, a lectina Cramoll, extraída das sementes de *Cratylia mollis*, está destacando-se devido às suas propriedades biológicas como mitogênica, imunomoduladora e antineoplásica (DE MELO et al., 2010; DE MELO et al., 2011; CUNHA et al., 2016).

Aplicações terapêuticas das lectinas

As lectinas estão descritas na literatura como ferramentas de interesse terapêutico nas diversas pesquisas, pois podem apresentar diversas atividades biológicas, como antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiparasitário, anti-inflamatória, antitumoral, imunomoduladora e como biomarcador (SINGH; SARATHI, 2012; IORDACHE et al., 2015). Elas podem inibir o crescimento de microrganismos e/ou serem agentes bactericidas e podem ser capazes de reconhecer seletivamente microrganismos que causam doenças, por isso, estão sendo estudadas como agentes antimicrobianos (SILVA et al., 2016). As lectinas podem interagir com carboidratos, lipopolissacarídeos e peptidoglicano presente na parede celular bacteriana, aglutinando e inibindo o crescimento celular através da alteração da permeabilidade celular, redução da absorção de nutriente, formação de poros e extravasamento do conteúdo extracelular, e/ou através da interação com receptores de membrana que promovem respostas intracelulares (MUKHERJEE et al., 2014; PROCÓPIO et al., 2017). As lectinas já apresentaram atividade antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus faecalis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (IORDACHE et al., 2015). Nesse sentido, a comunidade científica vem intensificando as pesquisas que visam analisar a atividade antibacteriana de lectinas (QU et al., 2015; PROCÓPIO et al., 2017).

Além de exibirem propriedade antibacteriana, elas podem apresentar atividade antibiofilme (BOSE et al., 2016). Os biofilmes são fatores de virulência importantes para o sucesso da infecção bacteriana e o reconhecimento dos carboidratos presentes na superfície celular das bactérias impede a adesão às células do hospedeiro e às superfícies, inviabilizando a formação do biofilme bacteriano (MUKHERJEE et al., 2014). Pesquisas recentes estão enfatizando a capacidade dessas moléculas de impedir a formação dos biofilmes e de erradicar os biofilmes préformados (BOSE et al., 2016; PROCÓPIO et al., 2017).

As lectinas também são estudadas pelo seu potencial antiparasitário, esta propriedade deve-se ao fato dessas moléculas interagirem com os carboidratos de alguns parasitos provocando interferência nos processos químicos e biológicos que levam à morte desses microrganismos. Estudos demonstram que elas já demonstraram atividade antiparasitária frente a como *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Leishmania braziliensis* e *T. cruzi* (CARPENTIERI ET AL., 2010; GRANT ET AL., 2011; FERNANDES et al., 2014).

Diversas lectinas também exibem atividade imunomoduladora uma vez que essas proteínas podem interagir com moléculas presentes em células do sistema imunológico promovendo a transdução de sinais para a produção de citocinas, espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico e outras moléculas envolvidas na defesa do hospedeiro (SINGH et al., 2017). Alguns estudos estão evidenciando a capacidade das lectinas de modular o sistema imunológico através da indução da produção de citocinas pertencentes aos perfis de respostas imunológicas inflamatórias como Th1 (IFN- γ , TNF- α e IL-6) e Th17 (IL-17A), e também, a habilidade para estimular a produção de IL-10, uma citocina anti-inflamatória com papel regulador e estimular a diferenciação e ativação de linfócitos T CD8⁺ e CD4⁺ (BRITO et al., 2017; PATRIOTA et al., 2017). Assim, as lectinas são

moduladores da resposta imunológica, pois reconhecem os carboidratos presentes nas superfícies celulares de agentes patogênicos e promovem a ativação da defesa imunológica inata e adaptativa (VÁZQUEZ et al., 2014).

CONCLUSÃO

Desta forma, pode-se afirmar, que diante das propriedades biológicas, como antibacteriana, antibiofilme, antiparasitária e imunoduladora demonstradas por essas proteínas, além da possibilidade de isolamento de novas lectinas biologicamente ativas, essas moléculas apresentam potencial como futuros fármacos para terapêutica de diversas doenças provocadas pelos microrganismos. Além do potencial biológico, a relação custo-benefício dessa molécula, associado à baixa toxicidade evidencia estas moléculas como ferramentas úteis para aplicações na indústria farmacêutica.

REFERÊNCIAS

BOSE, P. P. et al. A glucose/mannose binding lectin from litchi (*Litchi chinensis*) seeds: Biochemical and biophysical characterizations. **Biochemistry and Biophysics Reports**, Roterdã, v. 6, n. 1, p. 242–252, 2016.

BRITO, J. S. et al. Lectin from inflorescences of ornamental crop *Alpinia purpurata* acts on immune cells to promote Th1 and Th17 responses, nitric oxide release, and lymphocyte activation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, n. 1, p. 865-872, 2017.

CARPENTIERI, A. et al. The antiretroviral lectin cyanovirin-N targets well-known and novel targets on the surface of *Entamoeba histolytica* trophozoites. **Eukaryot Cell**, v. 9, n. 11, p. 1661-1668, 2010.

COELHO, L.C.B. et al. Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological / Pharmacological and Therapeutic Applications. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 1, n. 1, p. 1-22, 2017.

CUNHA, C. R. et al. Encapsulation into stealth liposomes enhanced the antitumor action of recombinant *Cratylia mollis* lectin expressed in *Escherichia coli*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 1355, p. 1-11, 2016.

DE MELO, C.M. et al. Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 1, p. 631-636, 2010.

DE MELO, C.M. et al. Mitogenic response and cytokine production induced by cramoll 1,4 lectin in splenocytes of inoculated mice. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 73, n. 2, p. 112-121, 2011.

DIAS, R.O. Insights into Animal and Plant Lectins with Antimicrobial Activities. **Molecules**, Basel, v. 20, n. 1, p. 519-541, 2015.

FERNANDES, M. P. et al. The *Cratylia mollis* Seed Lectin Induces Membrane Permeability Transition in Isolated Rat Liver Mitochondria and a Cyclosporine A-Insensitive Permeability Transition in *Trypanosoma cruzi* Mitochondria. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, n. 61, v.1, p. 381–388, 2014.

FIGUEIROA, E. O. et al. Lectin-Carbohydrate Interactions: Implications for the Development of New Anticancer Agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 34, p. 3667-3680, 2017.

GARDERÈS, J. et al. Porifera Lectins: Diversity, Physiological Roles and Biotechnological Potential. *Mar. Drugs*, v. 13, n. 8, p. 5059-5101, 2015.

GRANT, J. et al. Wheat germ supplement reduces cyst and trophozoite passage in people with giardiasis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 65, n. 6, p. 705-710, 2011.

HEYMANN, F. et al. The concanavalin A model of acute hepatitis in mice. **Laboratory Animals**, v. 49, n. 1, p. 12-20, 2015.

IORDACHE, F. et al. Antimicrobial and antiparasitic activity of lectins. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, Nova York, v. 16, n. 2, p. 152-161, 2015.

KUMAR, K. et al. Biological role of lectins: A review. **Journal of Orofacial Sciences**, Guntur, v. 4, n. 1, p. 20-25, 2012.

MUKHERJEE, S. et al. Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin. **Nature**, Londres, v. 505, n. 7481, p. 103–107, 2014.

PATRIOTA, L. L. S. et al. *Microgramma vacciniifolia* (Polypodiaceae) fronds contain a multifunctional lectin with immunomodulatory properties on human cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 103, n. 1, p. 36-46, 2017.

PROCOPIO, T. F. et al. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 5, n. 98, p. 419-429, 2017.

QU, M. et al. Purification of a secreted lectin from *Andrias davidianus* skin and its antibacterial activity. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Amsterdam, v. 167, n. 1, p. 140-146, 2015.

SANTOS, A. F. S. et al. Lectins: Function, structure, biological properties and potential applications. **Current Topics in Peptide & Protein Research**, v. 15, p. 41-62, 2014.

SILVA, P.M. et al. The juicy sarcotesta of *Punica granatum* contains a lectin that affects growth, survival as well as adherence and invasive capacities of human pathogenic bacteria. **Journal of Functional Foods**, London, v. 27, n. 1, p. 695-702, 2016.

SINGH, H.; SARATHI, S.P. Insight of Lectins - A review. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, Gurgaon, v. 3, n. 4, p. 1-9, 2012.

SINGH, R. S. et al. Immunomodulatory and therapeutic potential of a mucin-specific mycelial lectin from *Aspergillus panamensis*. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v.96, n. 1, p.241-248, 2017.

VÁZQUEZ A. et al. Mouse Macrophage Galactose-type Lectin (mMGL) is Critical for Host Resistance against *Trypanosoma cruzi* Infection. **International Journal of Biological Sciences**, Lake Haven, v.10, n. 8, p. 909-920, 2014.

MECANISMOS DE DANOS VASCULARES PELAS DIFERENTES CLASSES DE METALOPROTEASES DE VENENOS DE SERPENTES

Joeliton dos Santos Cavalcante¹, Evaldo Joaquim de Farias Filho¹, Anny Catharine de Lima¹, Maria Rejane de Sousa Silvino¹, Janicleide dos Santos Cavalcante¹, Mikaelly Batista da Silva¹, Cayo Antônio Soares de Almeida²

¹ Universidade Estadual da Paraíba, ²UEPB-PB Universidade Federal do ABC, UFABC-SP

RESUMO:

Introdução: As snake venom metaloproteinases (SVMPs) compreendem uma subfamília de enzimas dependentes de íons metálicos que induzem, edema, mionecrose, bolhas, dermonecrose, reação inflamatória e hemorragia durante o envenenamento por serpentes. Destas atividades supramencionadas, a hemorragia é um processo de grande relevância no envenenamento e de grande interesse para cientistas da área. **Objetivo:** Este estudo se propôs analisar estudos publicados em periódicos científicos acerca da ação de metaloproteases durante o envenenamento humano por serpentes, a fim de esclarecer o processo de gênese das manifestações hemorrágicas e elucidar os alvos das toxinas hemorrágicas. **Metodologia** Trata-se de um estudo de abordagem qualitativa que adota o método de revisão integrativa. São esclarecidos aspectos referentes aos alvos e danos causados por SVMPs nos componentes da membrana basal alvos destas toxinas. **Revisão:** SVMPs comprometem a integridade da microvasculatura através da hidrólise da membrana basal do endotélio e outros componentes da matriz extracelular. *In vivo*, SVMPs classe P-I variam em sua capacidade de causar hemorragia, BnPI é capaz de causar leves efeitos hemorrágicos em altas doses, enquanto Atroxilina-Ia também SVMP de classe P-I apresenta efeito semelhante a uma SVMPs de classe P-III, sendo esta capaz de desorganizar as fibras colágenas endoteliais. A Jararhagin, SVMPs de classe PIII, causa afrouxamento dos feixes de fibras de colágeno na derme e degradação maciça do colágeno fibrilar na hipoderme, onde ocorre a lesão hemorrágica. **Conclusão:** Com base nessas implicações, reforçamos que a hidrólise dos componentes da membrana basal, especialmente o colágeno, atua como um fator chave para a indução de hemorragia.

Palavras-chave: Dano vascular, hemorragia, veneno de serpentes.

INTRODUÇÃO

A perda da estabilidade hemostática durante um envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops*, é a origem dos distúrbios hemorrágicos que ocorrem nas vítimas. A ação de toxinas do veneno capazes de ativar fibrinogênio, protrombina e fatores de coagulação, ocasiona consumo de fibrinogênio e formação de fibrina intravascular, além de efeito anticoagulante (KINI; KOH, 2016).

As *snake venom metaloproteinases* (SVMPs) compreendem uma subfamília de enzimas que dependem de íons metálicos para exercerem suas funções e são classificados em três grupos de acordo com sua estrutura de domínio: 1) PI, que compreende apenas o domínio metaloproteinase; PII, que possuem, além do domínio catalítico, um domínio de desintegrina; e PIII, que apresentam um domínio catalítico seguido por um domínio do tipo desintegrina e um domínio rico em cisteína (TAKEDA, 2016).

SVMPs desempenham um papel fundamental nos acidentes ofídicos, uma vez que induzem uma série complexa de efeitos fisiopatológicos locais e sistêmicos. Clivam seletivamente um pequeno número de proteínas chave na cascata de coagulação sanguínea e da agregação plaquetária. Esta proteólise limitada conduz à ativação ou inativação de proteínas que estão envolvidas nestes processos, resultando assim em distúrbios na coagulação sanguínea e na agregação plaquetária (KINI; KOH, 2016).

No local da inoculação do veneno, as SVMPs induzem, edema, mionecrose, bolhas, dermonecrose, reação inflamatória proeminente e hemorragia, sendo esta última atividade a de maior interesse (GUTIÉRREZ; RUCAVADO; ESCALANTE; HERRERA, 2016; FOX; GUTIÉRREZ, 2017). Em geral, os potenciais hemorrágicos das SVMPs parecem estarem intimamente relacionados com sua estrutura de domínio, onde SVMPs PIII têm maior atividade hemorrágica que os SVMPs PI (TAKEDA, 2016).

OBJETIVO

Analisar estudos publicados em periódicos científicos acerca da ação de metaloproteases durante o envenenamento humano, a fim de esclarecer o processo de gênese das manifestações hemorrágicas e elucidar os alvos das toxinas hemorrágicas.

METODOLOGIA

Para a realização dessa revisão sistemática foi realizada uma busca de estudos sobre o mecanismo hemorrágico de venenos de serpentes nas seguintes bases de dados: MDPI, Pubmed, Scopus, Web of Science. A busca foi realizada entre maio e junho de 2018 utilizando os seguintes descritores: Dano vascular, hemorragia, hemostasia, toxinas, venenos de serpentes.

REVISÃO

SVMPs comprometem a integridade da microvasculatura através da hidrólise da membrana basal do endotélio e outros componentes da matriz extracelular, causando enfraquecimento da estabilidade mecânica dos capilares e subsequente perda da integridade das células endoteliais e extravasamento de componentes sanguíneos. A ação de forças biofísicas hemodinâmicas operam na microvasculatura (AUNG et al., 2010).

BnP1 uma SVMP de classe PI é capaz de induzir hemorragia apenas em altas doses, em menores concentrações a BnP1 induz um aumento da espessura da pele, provavelmente devido à sua atividade de formação de edema, e apenas pontos esparsos de hemorragia detectados na hipoderme. Em adição, BnP1 causa uma discreta desorganização das fibras de colágeno por toda a derme e a hipoderme, segundo (BALDO et al., 2010).

Atroxilina-Ia, uma SVMP de classe PI desprovida de tais domínios, apresenta atividade hemorrágica semelhante a uma SVMP de classe PIII, evidenciando um mecanismo diferente responsável por modular a hemorragia, que outros sítios de ligação presentes no domínio da SVMP poderiam estar associados e serem responsáveis pela adesão com alvos na membrana basal. Essa toxina apresenta mais ativa hidrolisando substratos macromoleculares, como a fibrina e induz a hidrólise quase completa do colágeno IV no local da lesão (FREITAS-DE- SOUSA et al., 2017).

SVMPs classe P-I variam em sua capacidade de causar hemorragia, e aquelas que causam hemorragia apresentam um potencial baixo para essa atividade, especialmente quando comparado a SVMPs P-III (ESCALANTE et al., 2011). A BJ-PI2 não é uma toxina hemorrágica e, portanto,

provavelmente contribui pouco para este efeito no veneno de *B. jararaca*. Entretanto, a atividade hemorrágica pode variar com a via de administração. Assim, por exemplo, neuwiedase (um SVMP P-I de *B. neuwiedi*) não é hemorrágica em pele ou músculo gastrocnêmio de ratos utilizados como modelo experimental, mas causa hemorragia quando aplicado topicamente ao músculo cremaster de rato exposto, conforme avaliado através de microscopia e nos pulmões após administração intravenosa (RODRIGUES et al., 2001).

BlatH1, SVMPs de classe PII isolada do veneno de *Bothriechis lateralis* apresenta uma localização preferencial na membrana basal dos vasos sanguíneos de forma generalizada no tecido. Essa localização também é observada nas vênulas pós-capilares (PCV) e também nas arteríolas e capilares. Sua localização tecidual é provavelmente uma das principais razões por trás da maior atividade hemorrágica característica das SVMP de classe PII (HERRERA et al., 2015).

A Jararhagin, SVMPs de classe PIII induz intensa hemorragia localizada na hipoderme e também no músculo esquelético adjacente à hipoderme em camundongos. Essa toxina causa afrouxamento dos feixes de fibras de colágeno na derme e degradação maciça do colágeno fibrilar na hipoderme, onde ocorre a lesão hemorrágica. A Jararhagin apresenta co-localização com colágeno tipo IV na membrana basal de vênulas e capilares confirmando a ligação particular que ocorre entre toxinas com atividades hemorrágicas aos componentes da membrana basal, explicando a sua acumulação perto dos vasos sanguíneos (BALDO et al., 2010). A presença de metades de carboidratos de domínios de lectina do tipo desintegrina, ricos em cisteína e tipo C P-III SVMPs também podem ser fatores importantes em sua atividade hemorrágica (ESCALANTE et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2010).

CONCLUSÃO

Considerando que a organização macromolecular e a estabilidade biomecânica da membrana basal são determinadas principalmente pela rede de colágeno tipo IV, sua clivagem alteraria a estabilização estrutural dos outros componentes relacionados da membrana basal. Corroborando à isso, observamos que a jararginina induz apenas pequenas alterações na distribuição da laminina, sugerindo que seus epítomos são conservados após o tratamento com a toxina. Esta característica não se restringe à patologia do veneno de serpentes. Em resumo, mostramos que a forte hemorragia induzida por SVMPs hemorrágicas classe P-III está relacionada ao seu acúmulo na membrana basal, atingindo concentrações enzimáticas suficientes para sua rápida degradação. Este mecanismo pode servir como ferramenta para o desenho de alternativas nas quais a administração local de inibidores de metaloproteinases pode complementar os antivenenos na neutralização de danos teciduais locais.

REFERÊNCIAS

- AUNG, Hnin Thanda et al. Biological and pathological studies of rosmarinic acid as an inhibitor of hemorrhagic *Trimeresurus flavoviridis* (habu) venom. **Toxins**, v. 2, n. 10, p. 2478-2489, 2010.
- BALDO, Cristiani et al. Mechanisms of vascular damage by hemorrhagic snake venom metalloproteinases: tissue distribution and in situ hydrolysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 4, n. 6, p. e727, 2010.
- ESCALANTE, Teresa et al. Key events in microvascular damage induced by snake venom hemorrhagic metalloproteinases. **Journal of proteomics**, v. 74, n. 9, p. 1781-1794, 2011.

FREITAS-DE-SOUSA, Luciana Aparecida et al. Insights into the mechanisms involved in strong hemorrhage and dermonecrosis induced by atroxlysin-Ia, a PI-class snake venom metalloproteinase. **Toxins**, v. 9, n. 8, p. 239, 2017.

GUTIÉRREZ, José María et al. Hemorrhage caused by snake venom metalloproteinases: a journey of discovery and understanding. **Toxins**, v. 8, n. 4, p. 93, 2016.

HERRERA, Cristina et al. Tissue localization and extracellular matrix degradation by PI, PII and PIII snake venom metalloproteinases: clues on the mechanisms of venom-induced hemorrhage. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 4, p. e0003731, 2015.

INI, R. M.; KOH, C. Y. Metalloproteases affecting blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation from snake venoms: definition and nomenclature of interaction sites. **Toxins**, v. 8, n. 10, p. 284, 2016.

OLIVEIRA, Ana K. et al. New insights into the structural elements involved in the skin haemorrhage induced by snake venom metalloproteinases. **Thrombosis and haemostasis**, v. 104, n. 03, p. 485-497, 2010.

RODRIGUES, Veridiana M. et al. Pathological alterations induced by neuwiedase, a metalloproteinase isolated from Bothrops neuwiedi snake venom. **Biochimie**, v. 83, n. 6, p. 471-479, 2001.

TAKEDA, S. ADAM and ADAMTS family proteins and snake venom metalloproteinases: A structural overview. **Toxins**, v. 8, n. 5, p. 155, 2016.

TÉCNICAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS AO MELHORAMENTO VEGETAL: UMA BREVE REVISÃO

Aiane Hirraela Ferreira Dos Santos Martins¹, Matheus de Jesus Sá Silva¹, Michely Correia Diniz²

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduando em Ciências Biológicas (UNIVASF). aianehirraela@gmail.com

²Universidade Federal do Vale do São Francisco, Docente do curso de Ciências Biológicas (UNIVASF). Grupo de Estudos Integrados do Semiárido.

RESUMO

Introdução: As pesquisas que estão em vigência com a biotecnologia no melhoramento vegetal são de bastante relevância para a produção e aplicação das tecnologias moleculares, aumentando a quantidade de informações e possibilitando novas ferramentas e métodos para desenvolver projetos e construir vários mecanismos capazes de modificar e criar novos organismos e produtos. **Objetivo:** Realizar uma revisão bibliográfica sobre técnicas moleculares aplicadas ao melhoramento vegetal. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão da literatura narrativa baseada em artigos científicos publicados em diferentes plataformas eletrônicas nacionais e internacionais. **Revisão** De acordo com os bancos de dados, as pesquisas relacionadas a técnicas biotecnológicas e melhoramento vegetal está aumentando. A utilização das técnicas de melhoramento está vinculada ao interesse por empresas e pesquisadores em buscar outras tecnologias para beneficiar todos os segmentos da ciência, visto que a utilização dessas técnicas aumenta a visibilidade na genética molecular e nas inovações da biotecnologia. **Conclusão:** As técnicas biotecnológicas vêm sendo aplicadas a várias tecnologias e em diversos segmentos dos setores industriais, farmacêutico, alimentício, mas principalmente na agricultura, em que o melhoramento vegetal vem se expandindo.

Palavras-chaves: DNA, engenharia genética, marcadores moleculares, plantas transgênicas.

INTRODUÇÃO

A agricultura em geral está passando por grandes avanços devido a aplicação das técnicas moleculares visando o melhoramento vegetal, auxiliando no processo de modernização na colheita e sementeira e após o surgimento da engenharia genética, a aplicabilidade das biotecnologias é fundamental para o melhoramento (SCHNEIDER et al., 2018).

A modificação de produtos ou a criação de produtos com técnicas que utilizem organismos vivos é o que define a biotecnologia, a partir dessa definição, a sociedade vem realizando a aplicação dessas técnicas biotecnológicas há séculos, através da domesticação de culturas vegetais, no entanto o uso do termo de manipulação de material genético dificulta a utilização dessa tecnologia em diversas pesquisas (RAMALHO et al., 2015).

A caracterização e conservação de espécies de plantas em bancos de germoplasmas vêm crescendo de forma expressiva, visto seu potencial econômico, possibilitando que esses organismos sejam inseridos em programas de melhoramento genético sendo utilizados para o desenvolvimento de estratégias para caracterização de recursos genéticos (SOUZA, 2015).

As pesquisas relacionadas à aplicação de biotecnologias no melhoramento vegetal têm sido de grande importância, aumentando assim a quantidade de dados, auxiliando no melhoramento de ferramentas e métodos que vem sendo desenvolvidos para projetar e criar melhores variedades, que sejam capazes de desenvolverem mecanismos de resistência a fatores bióticos e abióticos que seja sustentável e duradouro (VISSER, 2015).

OBJETIVO

Realizar uma revisão bibliográfica sobre técnicas moleculares aplicadas no melhoramento vegetal.

METODOLOGIA

Empregou-se uma revisão de literatura narrativa baseada em artigos científicos publicados em diferentes plataformas eletrônicas no período compreendido entre 2013 a 2018. Foi realizada a consulta de artigos em inglês e português, usando as seguintes palavras-chave na busca geral: técnicas biotecnológicas; melhoramento vegetal; *biotechnological techniques*; *vegetable breeding*. A busca foi realizada nas plataformas eletrônicas *PubMed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), *GoogleScholar* (<https://scholar.google.com.br>), *Science Direct* (<http://www.sciencedirect.com>). Os dados quantitativos foram tabulados através do programa *Microsoft Excel 2016*.

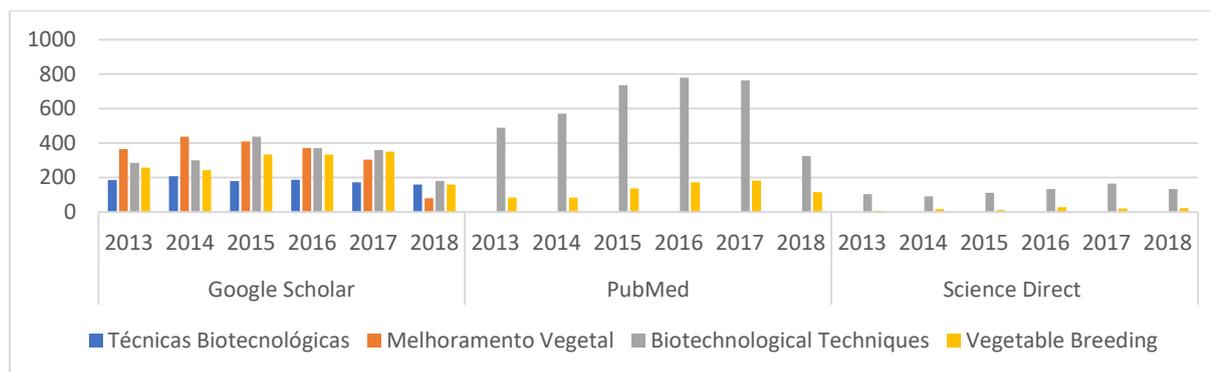
REVISÃO

De acordo com os avanços tecnológicos as técnicas moleculares foram mais investigadas e mais utilizada na recorrência de estudos da biotecnologia, onde visa à exploração do genoma celular do homem, das plantas, dos insetos e microrganismos. Na procura de respostas, as oportunidades de melhoramento estão vinculadas ao interesse por empresas e pesquisadores, em buscar outras capacidades e utilização dessa técnica bastante exercida, pela genética molecular (MEIRA GUSMÃO et al., 2015).

Levantamento bibliográfico

Podemos observar no Gráfico 1 que dentre os bancos de dados, o Google Scholar foi o que apresentou uma distribuição equitativa na quantidade de artigos relacionados às palavras buscadas, sendo encontradas todas as palavras-chaves nos seus resultados. No banco de dados *PubMed* foi encontrado uma maior quantidade de publicações com a palavra-chave “*Biotechnological Techniques*” sendo superior aos demais bancos com este enfoque de publicações e com maior aumento em 2016. No banco de dados *Science Direct*, foi encontrada uma menor quantidade, comparado aos outros dois bancos de dados, e com a prevalência de apenas uma das palavras-chaves mais publicada.

Gráfico 1. Número de artigos publicados no período de 2013 a 2018 com base nas palavras-chave: técnicas biotecnológicas; melhoramento vegetal; *biotechnological techniques*; *vegetable breeding* nas plataformas eletrônicas *PubMed*, *GoogleScholar* e *Science Direct*.



Fonte: Autoria Própria.

O potencial da genética molecular tem sido extensivamente explorado no estudo e manipulação de microrganismos, levando ao desenvolvimento de novas tecnologias que podem ser aplicadas tanto para eucariotos quanto para procaríotos. Neste aspecto, a transformação genética tem exercido uma função significativa não somente para o entendimento da biologia dos seres vivos, mas também para a potencialização e melhoramento de características particulares de determinados organismos (ROSSETO et al., 2018).

O melhoramento genético busca aumentar a ciência produtiva de animais e vegetais, pela seleção e disseminação das características de interesse econômico nos organismos, buscando novos métodos de modificação de genes. Um melhoramento genético não convencional é a transgenia, que permite a transmissão dos genes desejados entre espécies diferentes (AMARAL et al., 2017).

Tecnologia do DNA recombinante

A tecnologia de DNA é utilizada no melhoramento e modificação de DNA e foi colocada em outro patamar com mais aplicações e explorações em várias áreas da ciência. As empresas para usar essa técnica, hoje, com mais aplicação e com maior busca dessa biotecnologia vem desenvolvendo associações em determinadas áreas da ciência adquirindo melhoria no funcionamento de suas atividades, estabelecida por cientistas e empresas que precisam de novas tecnologias (RAMALHO et al., 2015).

Marcadores moleculares

Marcadores moleculares são características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente. Os distintos tipos de marcadores moleculares diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar variabilidade a nível de DNA, e assim variam quanto à habilidade de detectar diferenças entre indivíduos, custo, facilidade de uso, consistência e repetitividade (MILACH, 1998; SCHNEIDER et al., 2018).

Reação em Cadeia da Polimerase

Entre as tecnologias empregadas, que visam a obtenção de dados moleculares, a reação em cadeia da polimerase (PCR) é a técnica mais utilizada. A técnica de PCR consiste em alterações de temperatura que promovem a desnaturação do DNA, o anelamento de iniciadores (*primers*) complementares a determinada sequência do genoma e por fim, a extensão promovida por uma polimerase termoestável (Taq polimerase) (SAIKI et al., 1985; KRISHNAN, 2015).

Técnica do Polimorfismo por RFLP

A técnica de polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism* - RFLP) é uma ferramenta molecular simples e eficiente que pode ser empregada para detectar variabilidade genética em regiões conservadas não específicas, como também em regiões específicas entre indivíduos de uma mesma espécie, entre espécies diferentes ou mesmo entre populações, através da restrição de fragmentos e hibridização (PICCHI, 2002; SCHNEIDER et al., 2018).

Técnica do Polimorfismo por RAPD

A técnica de polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (*Random Amplified Polymorphic DNA*- RAPD) é baseada na técnica de Reação em Cadeia pela Polimerase (–PCR) com duas características distintas. Apresenta uma variação da PCR, pois o oligonucleotídeo único tem sequência arbitrária, portanto sua sequência alvo é desconhecida (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). É utilizada para a caracterização genética de espécies quando se desconhecem maiores informações genéticas. Marcadores deste tipo permitem caracterizar plantas e microrganismos e avaliar a diversidade genética entre indivíduos de uma mesma espécie ou diferentes espécies (WILLIAMS et al., 1990).

Técnica do Polimorfismo por AFLP

O polimorfismo gerado por AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) é uma combinação de RFLP e RAPD, apresenta uma herança mendeliana que pode ser usado para estudar similaridade ou dissimilaridade genética entre populações, para que assim possibilite desenvolver marcadores moleculares para o mapeamento de genes de interesse. Nessa técnica observa-se uma tendência acentuada de se utilizar a técnica na análise de bancos de germoplasma, e estudos populacionais. (KARAM et al., 2004; SCHNEIDER et al., 2018).

Técnica de Crispr/Cas9

A tecnologia CRISPR-Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), (Cas9- enzima) é uma ferramenta molecular que vem sendo usada para "Editar" ou "corrigir" o genoma de qualquer célula, graças a esse mecanismo elucidado em bactérias. Isso inclui, células de bactérias, vírus, fungos, plantas, animais e células humanas. Alguns autores mencionam analogicamente como "tesoura" molecular que são capazes de cortar qualquer molécula de DNA, fazendo isso de uma forma muito precisa e totalmente controlada. Essa capacidade corte de DNA é o que lhe permite modificar o a sequência, excluindo ou inserindo um novo DNA (OROZCO, 2018).

Técnica de Interferência de RNA

Tecnologia de interferência de RNAi, é uma tecnologia de silenciamento de genes, uma das mais recentes novidades proporcionadas pela pesquisa, permitindo a aplicação de produtos específicos e eficazes com ampla gama de aplicações, incluindo controle de plantas daninhas, insetos e vírus. É uma maneira de destruir o RNA mensageiro de uma determinada proteína, para que não seja feita a sua expressão gênica, sendo uma maneira muito efetiva de desligar determinados genes (REDDY ; JHA, 2016). Estudos com a interferência de RNAi levaram ao controle biológico da traça-do-tomateiro, um avanço no manejo agrícola (BENTO et al.,2017).

CONCLUSÃO

Observa-se que a biotecnologia auxilia no descobrimento de novas técnicas para o melhoramento vegetal, onde de acordo com o gráfico podemos perceber o avanço da pesquisa e das publicações relacionadas, ao melhoramento vegetal e as técnicas biotecnológicas, que no passar dos anos só vem aumentando. Nos bancos de dados como Google Scholar, PubMed e Science Direct, as publicações estão crescendo, e a partir do ano de 2016 ocorreu a maior quantidade de artigos publicados, nos mostrando que a biotecnologia está em plena ascensão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, G. F.; GUIMARÃES, D. D. Panoramas setoriais 2030: agropecuária. 2017.
- BENTO, F. M. M. **Silenciamento gênico por interferência de RNA (RNAi) em traça-do-tomateiro, Tuta absoluta (Meyrick), utilizando bactérias expressando dupla fita de RNA (dsRNA)**. 2017. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- MEIRA GUSMÃO, A. O. ; SILVA, A. R.; MEDEIROS, M. O. A Biotecnologia e os Avanços Da Sociedade. **Biodiversidade**, v. 16, n. 1, 2017.
- OROZCO, A. Z. Tecnología CRISPR-Cas9: una herramienta aplicable en la agricultura de Costa Rica, 2018.
- RAMALHO, M. P.; FURTINI, I. V. Técnicas biotecnológicas aplicadas ao melhoramento vegetal: alcance e limites. **Ceres**, v. 56, n. 4, 2015.
- REDDY, K. N.; JHA, P. Herbicide-resistant weeds: management strategies and upcoming technologies. **Indian J. Weed Sci**, v. 48, p. 108-111, 2016.
- SCHNEIDER, T. et al. Biologia molecular aplicada à ciência das plantas daninhas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 1, p. 12-24, 2018.
- SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 495-503, 2015.
- VISSER, R. G. F. Potential and future of novel molecular breeding techniques in plant breeding. **Procedia Environmental Sciences**, v. 29, p. 302, 2015.
- WILLIAMS, J. G. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic acids research**, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, 1990.

TRANSFRUTOSILAÇÃO DA SACAROSE E PRODUÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS DE LEVANA

Edmilson Clarindo de Siqueira¹

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada – Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE.

RESUMO

A sacarose é o dissacarídeo mais abundante na natureza contendo glicose e frutose. Na maioria das plantas, ela é acumulada nas folhas ou é armazenada no desenvolvimento de frutos, sementes, raízes e tubérculos. A sacarose pode ser enzimaticamente convertida em moléculas de carboidratos de alto valor, como frutooligossacarídeos e frutopolímeros pela ação de várias frutossiltransferases. O uso frutossiltransferases tem sido proposto como um método efetivo e econômico para produção de frutooligossacarídeos do tipo levana. Este trabalho destaca o cenário atual sobre a conversão enzimática de sacarose em levana, e a hidrólise desta para promover a formação de frutooligossacarídeos com aplicações na indústria de alimentos e bloco de construção química.

Palavras-Chave: Transfrutosilação, Frutossiltransferases, Frutooligossacarídeos, Levana.

1. INTRODUÇÃO

A sacarose é o mais abundante dissacarídeo na natureza e está disponível em grandes quantidades a custos relativamente baixos, podendo ser facilmente transformada em suas unidades monossacarídicas, ou isômeros de sacarose, ou outros glicosídeos de alto valor, ou oligossacarídeos, ou frutanos, pela ação de várias enzimas, coletivamente chamadas como sucrases (PITO et al., 2012).

A sacarose pode ser convertida diretamente em seus componentes de açúcares ou em outros produtos valiosos. As unidades de frutose e glicose produzidas a partir da sacarose podem ser transformadas em vários aceitadores pelas reações de transfrutosilação e transglicosilação, respectivamente usando várias enzimas transformadoras de sacarose. A transfrutosilação da sacarose é catalisada por várias frutossiltransferases (LI et al., 2015).

As frutossiltransferases são enzimas multifuncionais agrupadas pelo CAZY (banco de dados de enzimas ativas de carboidratos) nas famílias hidrolase de glicosídeo GH32 e GH68 (ORTIZ-SOTO; SEIBEL, 2014). A GH32 engloba frutossiltransferases vegetais, levanases, invertases, inulinases e frutofuranosidases, enquanto a GH68 inclui *inulosacarases*, que sintetizam frutanas com ligações β 2-1 (inulina) e levanasacarases, que produzem frutanas com ligações β 2-6 (levana) na cadeia principal (ORTIZ-SOTO; SEIBEL, 2014). Estas enzimas emergiram como ferramenta elegante para a síntese de frutanas e dentro da família GH68, a levansucrase é a principal enzima para a produção de levana e seus derivados a partir da sacarose, sendo expressa pela suplementação deste açúcar durante a fermentação (SRIKANTH et al., 2015).

A produção de frutooligossacarídeos para o consumo humano tem sido reportada principalmente a partir da inulina (ORTIZ-SOTO; SEIBEL, 2014), o que oculta o real potencial da levana neste contexto.

2. OBJETIVO

Este estudo tem por objetivo relatar a conversão enzimática da sacarose em levana por reação de transfrutossilacção e a produção frutooligossacarídeos do tipo levana.

3. METODOLOGIA

O presente estudo incluiu pesquisa nas plataformas PubMed e nas bases de dados MedLine, SciELO e *Web of Science*, seguindo etapas de seleção e análise crítica dos periódicos encontrados e escolhidos.

4. TRANSFRUTOSILAÇÃO DA SACAROSE E PRODUÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS

A reação de transfrutossilacção é altamente dependente de uma gama de fatores tais como, concentração da enzima e substrato, pH, presença de solventes orgânicos, entre outros. Por exemplo, doses elevadas de levanasacarase resultou na redução do tamanho de levana. Já o esgotamento da sacarose reduziu a atividade de transfrutossilacção, aumentando à de hidrolase. Somado a isso, em pH < 6 a atividade transferase é preponderante, enquanto que em pH > 7 a enzima possui atividade de hidrolase. Por fim, o uso de solventes orgânicos pode promover reações de transfrutossilacção em detrimento às de hidrólise (SRIKANTH et al., 2015; ONER; HERNÁNDEZ; COMBIE, 2016).

Estes parâmetros afetam os fatores termodinâmicos das frutossiltransferases, sejam elas atuando como frutanase ou hidrolase, e são importantes para entendimento do mecanismo da síntese de frutooligossacarídeos (LI et al., 2015).

4.1 Levansucrase e seu mecanismo de atuação

A enzima levanasacarase (sacarose 6-frutossiltransferase, EC 2.4.1.10) é um frutossiltransferase amplamente distribuída em várias bactérias, incluindo espécies Gram-positivas e Gram negativas que atuam sobre a sacarose, catalisando reações de transglicosilacção para formar o polímero de levana (SRIKANTH et al., 2015).

As levanasacarases funcionam através de um mecanismo de dupla troca (também chamado de mecanismo ping-pong), onde um intermediário de frutossil-enzima é formado por ligações covalentes. Neste mecanismo a enzima forma um complexo intermediário com a frutose (enzima-frutose) de uma molécula de sacarose (ping), liberando a glicose (pong). O complexo enzima-frutose interage, por exemplo, com uma molécula de água (ping), liberando uma segunda frutose (pong) (ONER; HERNÁNDEZ; COMBIE, 2016).

4.2 Produção e aplicação de frutooligossacarídeos tipo levana

O crescente interesse pelas levanasacarases se deve ao fato delas possuírem um amplo espectro para receptores de frutossil, permitindo gerar uma variedade de diferentes produtos de transfrutossilacção (LI et al., 2015). Por exemplo, a levanasacarase de *B. subtilis* pode promover a transfrutossilacção de aceitadores não convencionais, tais como, mono-, di- e trissacarídeos, álcoois alifáticos e aromáticos (ONER; HERNÁNDEZ; COMBIE, 2016).

Em bactérias Gram-positivas (como *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* e *Streptococcus salivarius*), a levansucrase tende a produzir levana sem acúmulo de frutooligossacarídeos (LI et al., 2015). Neste sentido, a alta polimerização de levana ocorre por um mecanismo processador, onde a

cadeia em crescimento mantém-se ligada à enzima e é progressivamente alongada. Ao passo que em espécies Gram-negativas (como *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Erwinia amylovora* e *Pseudomonas syringae*) a levanasacarase produz, preferencialmente, frutooligossacarídeos (LI et al., 2015). Neste caso, o processo ocorre por um mecanismo não processador, em que após cada transferência de frutossil, os frutooligossacarídeos acumulados são seguidamente liberados da enzima (ONER; HERNÁNDEZ; COMBIE, 2016).

Os frutooligossacarídeos tipo levana (LFOS) exibem propriedades prebióticas superiores às do tipo insulina (ZAMBELLI et al., 2014). Um prebiótico é um ingrediente alimentar resistente à hidrólise enzimática de mamíferos e que estimula o crescimento e a atividade de bactérias intestinais (MUTANDA et al., 2014). Por exemplo, LFOS preparados de levana produzida por *Z. mobilis* foram testados por Marx, Winkler e Harmeier (2000) no crescimento de bifidobactérias (*Bifidobacterium adolescentis*, *B. longum*, *B. breve* e *B. pseudocatenulatum*). As bifidobactérias foram capazes de fermentar os LFOS e produzirem ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), sendo que a maior produção AGCCs foi observada em *B. adolescentis*.

Porrás-Domínguez et al. (2014) também investigaram a atividade prebiótica de LFOS sob o crescimento de seis estirpes de bactérias probióticas (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707, *B. longum* var. *infantis* ATCC 17930, *B. longum* var. *infantis* NRRL 41661, *B. breve* NRRL41408, *B. bifidum* ATCC 29521 e *Lactobacillus paracasei*) e verificaram que *B. bifidum*, *B. longum* var. *infantis* NRRL 4661 e *B. breve* apresentaram melhores crescimentos em LFOS (PORRAS-DOMÍNGUEZ et al., 2014).

As aplicações farmacêuticas e biológicas de LFOS dependem de suas propriedades funcionais relacionadas ao peso molecular e o comprimento de cadeia (MUTANDA et al., 2014). Kanjanatanin, Pichyangkura e Chunsrivirod (2016) estudaram as propriedades estruturais e moleculares de LFOS com comprimentos de cadeia de 5 (LFOS₅), 10 (LFOS₁₀) e 15 (LFOS₁₅) utilizando um método computacional de simulação de dinâmica molecular. Verificou-se que os LFOS que tendem a formar estruturas helicoidais à medida que o comprimento da cadeia aumenta de 5 para 15 resíduos. Esta informação é importante para a seleção de LFOS com propriedades apropriados para aplicações biológicas (KANJANATANIN; PICHYANGKURA; CHUNSRIVIROD, 2016).

4.3 Produção de compostos frutossilados

A reação de transfrutossilagem é um método importante para a produção de lactosucrose, um trissacarídeo composto por D-glucose, D-galactose e D-frutose (LI et al., 2015). Park, Choi e Oh (2005) estudaram 11 tipos de micro-organismos com atividade intracelular de levanasacarase, e todas as cepas testadas foram capazes de produzir lactosucrose a partir de sacarose e lactose, sendo que *B. subtilis* KCCM 32835 exibiu maior produtividade (PARK; CHOI; OH, 2005).

Além da síntese de levana e oligossacarídeos, a levanasacarase também catalisa a transferência de frutossil da sacarose para álcoois alifáticos e aromáticos. Mena-Arizmendi et al. (2011) reportaram que levanasacarase de *B. subtilis* apresenta ampla aceitação para álcoois aromáticos e alifáticos. Verificou-se que álcoois aromáticos são mais aptos à frutossilagem que álcoois primários devido a maior reatividade dos grupos fenólicos inerente à sua capacidade de desprotonação (MENA-ARIZMENDI et al., 2011).

Em resumo, a glicosilação enzimática por levanasacarases microbianas pode ser uma abordagem alternativa para a produção de novos glicosídeos biotativos (LI et al., 2015).

4.5 Produção de dianidridos de difrutose

Os dianidridos de difrutose (DFAs) são dissacarídeos cíclicos compostos por dois resíduos de frutose com formação de duas ligações glicosídicas recíprocas. Há quatro tipos de DFAs: os DFA I, DFA III e DFA V (derivados da inulina) e; DFA IV, obtido a partir da levana pela enzima levana frutotransferase (LFTase, EC.4.2.2.16) (HANG, 2017).

O DFA IV (β -D-fructofuranose-2',6':2,6'-dianidrido) é muito estável não digerido no trato gastrointestinal, onde atua como carboidrato funcional melhorando as funções fisiológicas (HANG, 2017). O aumento na absorção de cálcio por DFA IV foi verificado *in vivo* por Saito e Tomita (2000). Este aumento deveu-se principalmente pela conversão do DFA IV em acetato, butirato e lactato pelos micro-organismos no intestino grosso de ratos (SAITO; TOMITA, 2000).

Recentemente, Yi et al. (2017) examinaram a aplicação de DFA-IV na fertilização *in vitro* (FIV) em suínos. Observou-se que a taxa de fertilização total (oócito mono + polissêmico) foi superior com a adição de 0,1% de DFA-IV (94,2%). Os oócitos fertilizados tratados com esta concentração apresentaram maior desenvolvimento embrionário e formação de blastocistos. Além disso, verificou-se também que os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) durante a incubação de esperma diminuíram após a adição de DFAIV. A adição de DFA-IV durante a FIV melhora a fertilização e o desenvolvimento embrionário (YI et al., 2017).

Resumidamente, os frutooligossacarídeos apresentaram propriedades prebióticas para bifidobactérias, tendo um efeito positivo na absorção de minerais no cólon, tornando-se um aditivo valioso na indústria de alimentos.

5. CONCLUSÃO

Levana e frutooligossacarídeos de levana têm sido produzidos por frutotransferases a partir da sacarose. Grande parte destas enzimas tem a capacidade de produzir um ou outro daqueles produtos dependendo da fonte da enzima e das condições de fermentação. Portanto, pesquisas por novas transferases enriquecerão a aplicação da tecnologia enzimática na modificação da sacarose para obter frutooligossacarídeos tipo levana biotativos.

6. REFERÊNCIAS

- HANG H. Recent advances on the difructose anhydride IV preparation from levana conversion. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 101, 2017. p. 7477-7486.
- KANJANATANIN K, PICHYANGKURA R, CHUNSRIVIROT S. Replica exchange molecular dynamics simulations reveal the structural and molecular properties of levana-type fructooligosaccharides of various chain length. **BMC Bioinformatics**, v. 17, n. 306, 2016. p. 1-8.
- LI W, YU S, ZHANG T, JIANG B, MU W. Recent novel applications of levansucrases. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 99, 2015. p. 6959-6969.
- MARX SP, WINKLER S, HARTMEIER W. Metabolization of β -(2,6)-linked fructose-oligosaccharides by different bifidobacteria. *FEMS Microbiology Letters*, v. 182, 2000. p. 163-169.

MENA-ARIZMENDI A, ALDERETE J, AGUILA S, MARTY A, MIRANDA-MOLINA A, LOPEZ-MUNGUÍA A, CASTILLO E. Enzymatic fructosylation of aromatic and aliphatic alcohols by *Bacillus subtilis* levansucrase: reactivity of acceptors. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, v. 70, 2011. p. 41-48.

MUTANDA T, MOKOENA MP, OLANIRAN AO, WILHELMI BS, WHITELEY CG. Microbial enzymatic production and applications of short-chain fructooligosaccharides and inulooligosaccharides: recent advances and current perspectives. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 41, n. 6, 2014. p. 893-906.

ONER ET, HERNÁNDEZ L, COMBIE J. Review of Levan polysaccharide: from a century of past experiences to future prospects. **Biotechnology Advances**, 2016. p. 1-18.

ORTIZ-SOTO ME, SEIBEL J. Biotechnological synthesis and transformation of valuable sugars in the food and pharmaceutical industry. Current Organic Chemistry, v. 18, n. 8, 2014. p. 964-986.

PARK NH, CHOI HJ, OH DK. Lactosucrose production by various microorganisms harboring levansucrase activity. Biotechnology Letters, 2005. p. 495-497.

PITO D, FONSECA I, RAMOS A, VITA, J, CASTANHEIRO J. Hydrolysis of sucrose over composite catalysts. **Chemical Engineering Journal**, v. 184, 2012. p. 347-351.

PORRAS-DOMÍNGUEZ JR, ÁVILA-FERNÁNDEZ A, RODRÍGUEZ-ALEGRÍA ME, MIRANDA-MOLINA A, SCALANTE A, GONZÁLEZ-CERVANTES R, OLVERA C, LÓPEZ MUNGUÍA A. Levan-type FOS production using a *Bacillus licheniformis* endolevanase. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 5, 2014. p. 783-790.

SAITO K, TOMITA F. Difructose anhydrides: their mass-production and physiological functions. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, v. 64, n. 7, 2000. p.1321-1327.

SRIKANTH R, REDDY CHSSS, SIDDARTHA G, RAMAIAH MJ, UPPULURI KB. Review on production, characterization and applications of microbial levan. **Carbohydrate Polymers**, v. 120, 2015. p. 102-114.

YI YJ, KAMALA-KANNAN S, LIM JM, OH BT, LEE SM. Effects of difructose dianhydride (DFA)-IV on in vitro fertilization in pigs. The Journal of Biomedical Research, v. 31, n. 5, 2017. p. 453-461.

ZAMBELLI P, FERNÁNDEZ-ARROJO, L, ROMANO D, SANTOS-MORIANO P, GIMENO-PEREZ M, POVEDA A, GANDOLFI R, FERNÁNDEZ-LOBATO M, MOLINARI F, PLOU F. Production of fructooligosaccharides by mycelium-bound transfructosylation activity present in *Cladosporium cladosporioides* and *Penicillium sizovae*. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 2, 2014. p. 2174-2180.

ASPECTOS IMUNOPATOGÊNICOS DA HANSENÍASE

Milena Roberta Freire da Silva¹, Flávia Steffany Leite Miranda², Karolayne Silva Souza³, Rafaell Batista Pereira⁴, Kátia Cilene da Silva Felix⁵

^{1, 2, 3, 4} Bacharelado em Biomedicina Faculdade Sete de Setembro – FASETE,

⁴Fisioterapeuta. Mestre em Nutrição. Professor do Curso de Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro – FASETE,

⁵Bióloga (Doutora em Fitopatologia) Professora do Curso de Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro – FASETE.

RESUMO

Introdução: A hanseníase é uma doença infectocontagiosa de evolução crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*. A resposta imune frente à hanseníase está associada às formas clínicas da doença, visto que os mecanismos imunológicos de defesa do hospedeiro são os principais determinantes para a forma de infecção desta. **Objetivo:** Este estudo visa descrever os principais mecanismos imunológicos envolvidos no controle da hanseníase, assim como compreender como ocorre a resposta imune frente a *M. leprae*. **Metodologia:** Trata-se de uma pesquisa bibliográfica de abordagem qualitativa do tipo narrativa e exploratória, onde foram realizadas buscas em bases nacionais e internacionais. **Revisão:** A resposta imune é dividida em inata e adquirida, onde a primeira interação do *M. leprae* com o hospedeiro é mediada por PAMPs e TLRs, CDs, macrófagos e linfócitos, sendo estes os responsáveis por desencadarem estímulos para produção de citocinas, o que levará a consequentemente formação do granuloma imune, responsável pela eliminação do bacilo e controle da doença. A resposta imune adquirida que pode ser do tipo celular ou humoral. O perfil imunológico Th1 produz citocinas do tipo IFN- γ , TNF- α , IL-2, que são responsáveis pela resposta imune celular, já do tipo Th2 resposta humoral, possuem um padrão de citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 e IL-10) visto que estas agem como anti-inflamatórias. **Conclusão:** Por ser uma doença multifatorial e complexa, é de grande relevância compreender como ocorre o controle desta através dos mecanismos imunes desenvolvidos pelo hospedeiro doente, para que assim possa ser instruída uma resposta imune apropriada contra o *M. leprae*.

Palavras-chave: Imunologia da hanseníase; *Mycobacterium leprae*; citocinas.

INTRODUÇÃO

A hanseníase, conhecida desde os tempos bíblicos como lepra, caracteriza-se por ser uma infecção granulomatosa, infectocontagiosa de evolução crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, um bacilo álcool – ácido – resistente (BAAR). A doença manifesta-se principalmente, por lesões cutâneas, com diminuição da sensibilidade térmica, dolorosa e tátil (IDET, 2004; LASTÓRIA; ABREU, 2012). A resposta imune frente à hanseníase está associada às formas clínicas da doença, visto que o predomínio da resposta celular relaciona-se com a forma clínica mais branda da doença (tuberculóide - TT), ocorrendo à formação de um granuloma bem definido, limitações das lesões e destruição completa dos bacilos, já a ausência desta resposta celular leva a forma clínica mais grave (virchowiana - LL), onde ocorre excessiva multiplicação bacilar e disseminação da infecção para vísceras e tecido nervoso (FOSS, 1997; MENDONÇA, et al.; 2008).

Esta doença representa um problema de saúde pública em algumas partes do mundo, inclusive no Brasil. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2016, foram notificados 214.783 casos novos de hanseníase no mundo. No Brasil, no mesmo ano, foram notificados 25.218 casos novos, perfazendo uma taxa de detecção de 12,2/100 mil habitantes (FREITAS, et al; 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE; 2018).

A hanseníase é transmitida de pessoa a pessoa, através do contato íntimo e prolongado com o indivíduo doente e que não está sendo tratado. Sua transmissão esta fortemente ligada a fatores socioeconômicos como: estado nutricional, situação de higiene e as condições de moradia da população. Todavia, a maior parte das pessoas que entram em contato com o bacilo não adoecerá, pois estima-se que estas possuam mecanismos de defesa natural (imunidade) contra a *M. leprae* (QUEIROZ; PUNTEL; 1997; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Dessa forma, o objetivo deste estudo é descrever quais os principais mecanismos imunológicos estão envolvidos no controle da hanseníase, assim como compreender como ocorre a resposta imune frente a *M. leprae*.

METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa bibliográfica de abordagem qualitativa do tipo narrativa e exploratória. Em relação aos procedimentos do estudo, foram realizadas buscas nas bases eletrônicas nacionais e internacionais Medline, Scientific Electronic Library On-line (SCIELO), Scholar Google (Google Acadêmico), Pubmed e Biblioteca virtual de saúde (Bvs), buscando artigos indexados sobre o tema utilizando as principais palavras-chave: hanseníase, imunologia da hanseníase e *Mycobacterium leprae* no período de 1997 a 2018. Consideraram-se elegíveis os estudos nas línguas portuguesa e inglesa. Além de livros, teses e dissertações.

REVISÃO

A resposta imune pode ser dividida esquematicamente em inata e adquirida (MENDONÇA, et al.; 2008). A primeira linha da interação entre o *M. leprae* e o hospedeiro é mediada por receptores de reconhecimento de padrões que detectam padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs). Esses receptores de reconhecimento são expressos principalmente por células fagocíticas, como macrófagos e células dendríticas. Muitas teorias têm sido propostas para o mecanismo imune na hanseníase, as quais têm sido baseadas no curso da resposta envolvendo a relação entre receptores Toll-like (TLRs), células dendríticas (CDs), macrófagos e linfócitos. Entre os receptores expressos pelas células fagocíticas, o TLR2 e o TLR4 são os dois principais receptores envolvidos no desenvolvimento da resposta imune pelo reconhecimento dos PAMPs do *M. leprae* (SENGUPTA, 2007).

Os receptores TLRs, especialmente o TLR2 são ativados por lipoproteínas do *M. leprae*, e a capacidade de iniciar a resposta protetora esta diretamente relacionada à secreção de IL – 12 e 23 e a diferenciação de macrófagos e CDs. As CDs são as principais apresentadoras de antígenos e causa a ativação de células T através da secreção de IL-12. Este processo pode levar a expansão e diferenciação de células Th1 produtora de IFN γ , onde este IFN γ é produzido devido o estímulo direto das células natural killer (NK), que tem com função potencializar ativação de macrófagos, levando conseqüentemente a formação do granuloma imune, induzindo assim uma resposta imune responsável pela eliminação do bacilo, controlando a evolução da doença (FOSS, 1997; MENDONÇA, et al., 2008, FRANCHESCHI, et al., 2009).

A resposta imune adaptativa é caracterizada por apresentar mecanismos que se baseiam no reconhecimento específico do antígeno, mediado por receptores presentes nas membranas dos linfócitos T e B, podendo assim ser categorizada como resposta imune adaptativa do tipo celular ou humoral (MENDONÇA, et al.; 2008). A capacidade dos linfócitos T *helper* (CD4+) em desenvolver uma resposta imune celular ou humoral esta relacionada com o tipo de citocina que será secretada, proporcionando o desenvolvimento de um padrão imunológico predominante Th1 em pacientes tuberculóide (TT) ou Th2 em virchowianos (LL) (PARELLI; 2011).

No perfil imunológico Th1, as citocinas mais abundantes são IFN- γ , TNF- α , IL-2, que são responsáveis pela resposta imune celular. A IL-2 é encarregada de ativar receptores dos linfócitos CD4+, estimulando a proliferação de linfócitos T ativados que serão responsáveis pela manutenção da produção de citocinas, que irão ativar células NK, responsáveis pela apoptose induzida por ativação (AICD) em linfócitos continuamente estimulados, já as citocinas IFN- γ e TNF- α tem função pró-inflamatória agindo de maneira simultânea e cíclica (PARELLI, 2011; ALVES, et al., 2014). Em pacientes TT a resposta imune celular apresenta se de forma efetiva contra a micobactéria, pois os macrófagos sob influencia destas citocinas juntamente com os linfócitos são responsáveis pela ativação e formação do granuloma, onde existe uma predominância de linfócitos CD4+ na área central e CD8+ na periferia (PARELLI, 2011).

Indivíduos LL possuem um padrão de citocinas do tipo Th2 nas lesões (IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 e IL-10), visto que estas agem como anti-inflamatórias, elas são supressoras da atividade macrofagica, produzindo bloqueio da estimulação dos macrófagos. A IL-4 estimula os linfócitos B, tornando-os produtores de anticorpos, e os mastócitos, que passam a produzir mais IL-4 aumentando a resposta supressora dos macrófagos. No entanto estes anticorpos não são protetores da doença. Para este perfil, a IL-4 diminui a expressão de TLR2 em monócitos e a IL-10 age suprimindo a IL-12, o que esta relacionada com a predominância de linfócitos CD8+ nas lesões (FRANCHESCHI, 2009; PARELLI, 2011)

Sendo assim, dependendo da subpopulação de células T em atividade, durante o processo inflamatório, haverá predominância de mecanismos de defesa ou de disseminação da doença, tendo em vista que o destino da infecção causada pelo *M. leprae* em um hospedeiro parece depender de quando e como uma determinada citocina está disponível no sitio e, da presença do parasita em relação a vários outros produtos (FOSS, 1997; FRANCHESCHI, 2009).

CONCLUSÃO

A hanseníase é uma doença multifatorial e complexa, pois o desenvolvimento da infecção e das formas clínicas após o contato com o bacilo, está associada a diversos fatores, como as condições socioeconômicas, de moradia e estado nutricional, mas a infecção é determinada principalmente pelas condições imunologias do indivíduo. A resposta imune inata e adaptativa são as principais responsáveis pelo controle da infecção, onde os mecanismos de ação irão atuar de acordo com o controle ou progresso da doença, sendo assim se faz de suma importância compreender como estes mecanismos agem, para que assim possa ser instruída uma resposta imune apropriada contra o *M. leprae*.

REFERÊNCIAS

ALVES, E. D. et al.; HANSENÍASE AVANÇOS E DESAFIOS, **Universidade de Brasília - NESPROM**, p. 492, 2014.

EIDT, L. M. Breve história da hanseníase: sua expansão do mundo para as Américas, o Brasil e o Rio Grande do Sul e sua trajetória na saúde pública brasileira, **Saúde e Sociedade**, v. 13, n. 2, p. 76-88, 2004.

FOSS, N. T. ASPECTOS IMUNOLÓGICOS DA HANSENÍASE, **Medicina – Ribeirão Preto**, n. 30, p. 335-339, 1997.

FRANCHESCHI, D. S. A. et al.; Hanseníase no Mundo Moderno *O Que Sabemos Sobre a Influência Genética do Hospedeiro no seu Controle?*, **Arquivo de Medicina**, v. 23, n. 4, p. 159-165, 2009.

FREITAS, L. R. S. et al.; Análise da situação epidemiológica da hanseníase em uma área endêmica no Brasil: distribuição espacial dos períodos 2001 – 2003 e 2010 – 2012, **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, n. 4, p. 702-713, 2017.

LASTÓRIA, J. C.; ABREU, M. A. M. M. Hanseníase: diagnóstico e tratamento, **Dermatologia**, V. 17, N. 4, P. 173-179, 2012.

MENDONÇA, V. A. et al.; Imunologia da hanseníase, **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 83, n. 4, p. 343-350, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE- Secretaria de Vigilância em Saúde, Boletim Epidemiológico, v. 49, n. 4, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, GUIA PRÁTICO SOBRE A HANSENÍASE, 1ª edição, Brasília – DF, 2017.

PARELLI, F. P. C. **Papel de polimorfismos genéticos nos genes IL10, TNF e LTA na hanseníase**, 2011, 129 F. Dissertação (Mestre em Doenças Tropicais) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2011

QUEIROZ, M. S.; PUNTEL, M. A. A situação epidemiológica da hanseníase no Brasil e em Campinas, **SciELO Books**, Editora FIOCRUZ, 120 p., 1997.

SENGUPTA, U. IMMUNOPATHOLOGY OF LEPROSY; A STATE OF THE ART,
International Journal of Leprosy. 68, n. 2, 2007.

SOUZA, C. S. HANSENÍASE: FORMAS CLÍNICAS E DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL,
Medicina – Ribeirão Preto, v. 30, p. 325-334, 1997.

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE CrataBL ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS FRENTE A CEPAS COM PERFIL DE RESISTÊNCIA

Luís André de Almeida Campos¹, Sérgio Dias da Costa Junior¹, João Victor de Oliveira Santos¹, Carlos Eduardo Sales da Silva², Patrícia Maria Guedes Paiva², Maria Tereza dos Santos Correia², Nereide Stela Santos Magalhães¹, Isabella Macário Ferro Cavalcanti¹

¹Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Recife, Pernambuco, Brasil

²Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Bioquímica, Recife, Pernambuco, Brasil

Introdução: Enterobactérias produtoras de β -lactamase de espectro estendido (ESBL) e *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) são os principais patógenos envolvidos em infecções nosocomiais com altas taxas de morbimortalidade. Assim, a comunidade científica busca novos agentes antimicrobianos e novas estratégias terapêuticas para o tratamento de infecções causadas por essas cepas. CrataBL é uma lectina promissora para uso em terapia de doenças, pois apresenta diversas propriedades biológicas, contudo pode ser rapidamente degradada em fluidos biológicos. Desta forma, nanocarreadores, como lipossomas, aparecem como uma opção para superar essa limitação e permitir o uso terapêutico da CrataBL. **Objetivo:** O presente estudo avaliou a atividade antibacteriana de CrataBL encapsulada em lipossomas. **Metodologia:** Inicialmente, houve a identificação do perfil de resistência dos isolados clínicos através dos métodos descritos pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI). Os lipossomas contendo CrataBL (CrataBL-Lipo) foram preparados pela técnica de congelamento-descongelamento seguida por extrusão. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de CrataBL e CrataBL-Lipo frente aos isolados clínicos de ESBL e KPC foi realizada pelo método de microdiluição de acordo com o CLSI. **Resultados:** Foram encontradas três cepas ESBL e três KPC. CrataBL não apresentou atividade antibacteriana (CIM > 0,90 mg/ml). CrataBL-Lipo apresentou CMI de 0,90 mg/ml frente a *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e aos isolados clínicos de KPC e CIM de 0,80 mg/ml e 0,70 mg/ml frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 e aos isolados clínicos de ESBL, respectivamente. **Conclusão:** CrataBL encapsulada em lipossomas pode se tornar uma opção terapêutica para o tratamento de infecções bacterianas causadas por ESBL e KPC.

Palavras-chave: Nanocarreadores, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, ESBL, KPC.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as infecções microbianas estão sendo consideradas como causa principal de morbidade e mortalidade, em especial, nos países em desenvolvimento, impactando negativamente a economia e a saúde pública (ALISSON et al., 2017). Dentre os diversos agentes patogênicos, as bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* destacam-se, especialmente, as resistentes aos antimicrobianos, responsáveis por causar infecções nosocomiais e comunitárias graves, de difícil tratamento, que podem levar o paciente a óbito (LUEPKE et al., 2017).

Com o aumento da resistência, principalmente, dos bacilos gram negativos produtores de β -lactamase de espectro estendido (ESBL) e de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), ocorre

a maior preocupação dos profissionais de saúde, uma vez que estas bactérias resistentes estão tornando-se comuns em infecções, promovendo surtos com altas taxas de mortalidade, principalmente em UTIs (WOZNIAK; PATERSON; HALTON, 2017).

Devido ao problema da resistência bacteriana e às limitações enfrentadas no uso dos fármacos, novas moléculas que têm ação antibacteriana estão sendo pesquisadas. Nesse cenário, as lectinas, proteínas que podem reconhecer e se ligar reversivelmente aos carboidratos, vêm ganhando destaque nas pesquisas como agentes terapêuticos (KUMAR et al., 2012). CrataBL é uma lectina extraída de *Crataeva tapia*, uma árvore amplamente distribuída no Brasil, em especial na Floresta Atlântica Tropical (FERREIRA et al., 2013). Esta lectina apresenta uma variedade de atividades, tais como atividade antitumoral (FERREIRA et al., 2013), atividade antitrombótica (SALU et al., 2014) e atividade larvicida (NUNES et al., 2015). Devido às suas diversas atividades biológicas, a CrataBL é uma molécula promissora na terapêutica.

A administração de lectinas como fármacos apresenta limitações como a rápida degradação em fluidos biológicos e a necessidade de uma frequência de doses para manter o nível terapêutico (CUNHA et al., 2016). Essas dificuldades podem ser superadas através da encapsulação dessas moléculas em nanocarreadores, como os lipossomas. Os lipossomas são vesículas formadas por uma ou mais bicamadas lipídicas que isolam um ou vários compartimentos aquosos internos do meio externo (AKBARZADEH et al., 2013). Esse nanocarreador mantém a concentração plasmática do fármaco dentro da faixa terapêutica, preserva o fármaco da degradação, permite a diminuição da frequência das doses administradas e apresenta baixa toxicidade, proporcionando aumento da eficácia terapêutica e uma melhor adesão do paciente ao tratamento (SRIRAMAN; TORCHILIN, 2014).

OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de CrataBL e CrataBL encapsulada em lipossomas.

METODOLOGIA

Identificação do perfil de resistência dos isolados clínicos

A identificação do perfil de resistência dos isolados clínicos foi realizada de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2016). Foram utilizados os métodos de disco difusão, teste de aproximação e teste de Hodge para a identificação do perfil fenotípico dos isolados.

No método de disco difusão para identificação de ESBL e KPC foram preparados inóculos dos microrganismos ajustados no 0,5 da escala de McFarland e semeados em placa de petri contendo ágar Müeller-Hinton (MHA). Posteriormente, os discos de ceftazidima (CAZ) (30 µg), cefotaxima (CTX) (30 µg), cefpodoximo (CPD) (10 µg), aztreonam (ATM) (30 µg), imipenem (IMP) (10 µg) e meropenem (MEM) (10 µg) foram depositados nas placas que foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 h para identificação de ESBL e KPC. Após a incubação, os halos de inibição foram medidos e analisados seguindo os pontos de corte do CLSI (CLSI, 2016).

Para a realização do teste de aproximação foram preparados inóculos dos microrganismos ajustados no 0,5 da escala de MacFarland e semeados em placa de petri com MHA. Posteriormente, o disco de amoxicilina + ácido clavulânico (AMC) (10 µg) foi depositado no centro da placa de petri e os discos de ATM e CAZ foram adicionados com uma distância de 20 a 25 mm do AMC. As

placas foram incubadas a 37 ± 2 °C por 24 h. Após, o tempo de incubação foi analisado se houve aumento do diâmetro do halo de inibição ou o aparecimento da zona fantasma, distorção do halo ao redor do disco β -lactâmico que indica a produção de β -lactamases de espectro estendido.

No teste de Hodge, a cepa *E. coli* ATCC 25922 foi ajustada em salina a 0,9% no 0,5 da escala de McFarland e semeada em placa de petri em MHA. No centro da placa, foi adicionado um disco de IMP. Posteriormente, com auxílio de uma alça, as amostras testes foram semeadas em estrias próximas ao disco do β -lactâmico. As placas foram incubadas a 37 ± 2 °C por 20 a 24 h e foi analisada a presença de distorção no halo de inibição, que é indica a produção de carbapenemase.

Preparação de lipossomas contendo CrataBL

Os lipossomas contendo CrataBL (CrataBL-Lipo) foram preparados por técnica de congelamento-descongelamento de acordo com Pick et al. (1981). Inicialmente, os lipídios foram solubilizados em solvente orgânico sob agitação magnética. O solvente foi removido sob pressão resultando em um filme lipídico. Em seguida, este filme foi hidratado com uma solução de CrataBL solubilizada em tampão fosfato pH 7,4 (1 mg/ml) e submetida a dois ciclos de congelamento e descongelamento para a formação de lipossomas multilamelares. A suspensão lipossômica foi sonicada por 150 s para formar lipossomas pequenos unilamelares. Lipossomas sem CrataBL foram preparados como controle para os testes realizados.

Atividade antibacteriana de CrataBL e CrataBL encapsulado em lipossomas

A atividade antibacteriana de CrataBL e CrataBL-Lipo foi realizada pelo método de microdiluição em caldo de acordo com o CLSI (CLSI, 2016). Inicialmente, foi adicionado caldo Müller Hinton (MHC) nas placas de microdiluição. CrataBL e CrataBL-Lipo foram adicionados e as suspensões bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, isolados clínicos ESBL e KPC foram ajustados a 0,5 da escala de McFarland e depositado nas microplacas. Em seguida, as placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 h. A CIM foi determinada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano por análise espectrofotométrica a 620 nm. O experimento foi realizado com lipossomas sem o fármaco para avaliar a atividade dos constituintes dos lipossomas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após os testes para identificação do perfil de resistência demonstraram que duas cepas de *Escherichia coli* apresentaram perfil ESBL e uma cepa o perfil KPC. Foi observado o inverso para cepas de *Klebsiella pneumoniae*, pois foram encontradas duas cepas com perfil de resistência KPC e uma ESBL (tabela 1).

Os resultados demonstraram que o CrataBL não apresentou CIM nas concentrações testadas neste estudo (CIM > 0,90 mg/ml). O valor de CIM de CrataBL-Lipo frente a *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e aos isolados clínicos de KPC foi de > 0,90 mg/ml. Para *Escherichia coli* ATCC 25922 e os isolados clínicos de ESBL, os valores de CIM de CrataBL-Lipo foram de 0,80 mg/ml e 0,70 mg/ml, respectivamente. (Tabela 2). Os lipossomas sem CrataBL não exibiram atividade antibacteriana.

O número de infecções por bactérias patogênicas com perfil de resistência está aumentando e causando alto impacto negativo para a saúde pública do Brasil (SOARES et al., 2016). *E. coli* e *K. pneumoniae* são bactérias gram-negativas envolvidas em grande parte das infecções do sistema

nervoso central, do sistema urinário, da circulação sanguínea, dos tecidos moles, causando diarreia, pneumonia, bacteremia, septicemias e infecções nas UTIs (ESTERLY et al., 2012).

A atividade antibacteriana das lectinas não é significativa na literatura. Em estudos recentes, Procopio et al. (2017) analisaram o efeito antibacteriano do CasuL, uma lectina extraída de folhas de *Calliandra surinamensis*. Os resultados deste estudo mostraram que houve menos de 50% de inibição no crescimento de *Escherichia coli* ATCC 25922. Bose et al. (2016) avaliaram a atividade antibacteriana de Litchi, lectina extraída da planta *Litchi chinensis*, e os resultados indicaram a ausência de atividade antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabela 1: Identificação do perfil de resistência fenotípica de isolados clínicos de bactérias Gram negativas.

Identificação das cepas	Identificação da espécie	Inhibition Halos (mm)						Teste de Aproximação	Teste de Hodge	Perfil de Resistência
		CAZ	CTX	CPD	ATM	ETP	MEM			
LMB 21	<i>Escherichia coli</i>	9 ± 1,0	7 ± 0,2	7,1 ± 0,5	9 ± 1,0	1,7 ± 0,3	2,2 ± 0,5	NR	+	KPC
LMB 38	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 ± 0,3	9 ± 1,2	10,3 ± 0,9	8 ± 0,5	3,2 ± 0,5	4,3 ± 1,0	NR	+	KPC
LMB 44	<i>Escherichia coli</i>	15,3 ± 1,0	16,6 ± 0,2	11 ± 0,5	12 ± 1,9	25 ± 1,8	24,4 ± 0,9	+	NR	ESBL
LMB 80	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11 ± 2,1	10 ± 0,9	10,8 ± 0,5	10 ± 0,4	2 ± 0,2	2,5 ± 0,4	NR	+	KPC
LMB 85	<i>Escherichia coli</i>	13,5 ± 1,6	15,2 ± 0,7	13,7 ± 1,0	19 ± 1,7	26 ± 2,4	23 ± 1,2	+	NR	ESBL
LMB 93	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15,5 ± 0,9	17,5 ± 1,4	10 ± 0,3	18 ± 1,9	26,7 ± 1,6	27 ± 0,8	+	NR	ESBL

LMB: Laboratório de Microbiologia; CAZ: Cefotaxidima; CTX: Cefotaxima; CPD: Cefpodoxime; ATM: aztreonam; ETP: Ertapenem; MEM: Meropenem; NR: não executado; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; ESBL: Enterobactérias produtora de β-lactamases de espectro estendido.

A atividade antibacteriana do CrataBL foi observada após a encapsulação em lipossomas. As lectinas podem não encontrar seu alvo de ação e promover sua atividade antibacteriana (IORDACHE et al., 2015). Assim, possivelmente, o lipossoma permitiu a entrega do CrataBL, e, como consequência, a interferência no crescimento e na viabilidade celular dos microrganismos utilizados neste estudo.

Tabela 2: Atividade antibacteriana de CrataBL e CrataBL encapsulada em lipossomas.

Cepas bacterianas	CrataBL	CrataBL-Lipo
	CIM (mg/ml)	

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	> 0,90	0,80
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	> 0,90	0,90
Isolados clínicos de ESBL	> 0,90	0,70
Isolados clínicos de KPC	> 0,90	0,90

ESBL: Enterobactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; ATCC: American Type Culture Collection; CIM: Concentração inibitória mínima; CrataBL-Lipo: CrataBL encapsulada em lipossomas.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, podemos inferir que as formulações lipossomais contendo CrataBL apresentam o potencial antibacteriano e podem ser utilizadas para futuros testes *in vivo*.

REFERÊNCIAS

- AKBARZADEH, A. et al. Liposome: classification, preparation, and applications. **Nanoscale Research Letters**, v. 8, n. 102, p. 1-9, 2013.
- ALLISON, D. et al. Synthesis and antimicrobial studies of novel derivatives of 4-(4-formyl-3-phenyl-1H-pyrazol-1-yl) benzoic acid as potent anti-*Acinetobacter baumannii* agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n.3, p. 387-392, 2017.
- BOSE, P. P. et al. A glucose/mannose binding lectin from litchi (*Litchi chinensis*) seeds: Biochemical and biophysical characterizations. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 6, n. 1, p. 242–252, 2016.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 27th Edition (M100-S27). Wayne, PA, 2016.
- CUNHA, C. R. et al. Encapsulation into stealth liposomes enhanced the antitumor action of recombinant *Cratylia mollis* lectin expressed in *Escherichia coli*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n.1355, p. 1-11, 2016.
- ESTERLY J. S. et al. Evaluation of clinical outcomes in patients with bloodstream infections due to gram-negative bacteria according to carbapenem MIC stratification. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.6, n.1, p.4885-4890, 2012.
- FERREIRA, R. S. et al. Crystal Structure of Crataeva tapia Bark Protein (CrataBL) and Its Effect in Human Prostate Cancer Cell Lines. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. 1-14, 2013.

IORDACHE, F. et al. Antimicrobial and antiparasitic activity of lectins. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 152-161, 2015.

LUEPKE, K. H. et al. Past, Present, and Future of Antibacterial Economics: Increasing Bacterial Resistance, Limited Antibiotic Pipeline, and Societal Implications. **Pharmacotherapy**, v. 37, n. 1, p. 71-84, 2017.

NUNES, N. N. et al. Potential of the Lectin/Inhibitor Isolated from *Crataeva tapia* Bark (CrataBL) for Controlling *Callosobruchus maculatus* Larva Development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 48, p. 10431-10436, 2015.

PICK, U. Liposomes with a large trapping capacity prepared by freezing and thawing of sonicated phospholipid mixture. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 212, n. 1, p.186-194, 1981.

PROCOPIO, T. F. et al. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 5, n. 98, p. 419-429, 2017.

SALU, B. S. et al. CrataBL, a lectin and factor Xa inhibitor, plays a role in blood coagulation and impairs thrombus formation. **Biological Chemistry**, v. 395, n. 9, p. 1027-1035, 2014.

SOARES et al. Biofilm production and resistance profile of *Enterobacter* sp. strains isolated from pressure ulcers in Petrolina, Pernambuco, Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 52, p. 678-4774, 2016.

SRIRAMAN, S. K.; TORCHILIN, V. P. Recent advances with liposomes as drug carriers. In: **Advanced Biomaterials and Biodevices**, 1. ed. USA: Scrivener/Wiley, 2014. p.79-120.

WOZNIAK, T. M.; PATERSON, D.; HALTON, K. Review of the epidemiological data regarding antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria in Australia. **Infection, Disease & Health**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2017.

POLIMORFISMOS EM GENES DE CITOCINAS ANTI E PRÓ-INFLAMATÓRIAS ASSOCIADOS A SUSCETIBILIDADE PARA À TUBERCULOSE

Karolayne Silva Souza¹, Flávia Steffany Leite Miranda², Milena Roberta Freire da Silva³

Kátia C. da Silva Félix⁴, Rafaell Batista Pereira⁵

^{1,2,3}Graduandas do VI período do Curso de Bacharelado em Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro – FASETE, ⁴ Bióloga e Doutora em Fitopatologia. Professora do Curso de Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro, ⁵Fisioterapeuta. Mestre em Nutrição. Professor do Curso de Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro.

RESUMO

Introdução: A tuberculose (TB) é uma doença crônica e infectocontagiosa, causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), a doença possui uma apresentação clínica que acomete principalmente os pulmões. Apenas a infecção pela bactéria não é suficiente para causar a doença, alguns fatores são importantes para a evolução da doença, entre elas estão as interações genéticas, fatores ambientais e clínicos, assim como o estado imunológico do indivíduo. **Objetivo:** O estudo tem o objetivo descrever polimorfismos nos genes *TNF- α* e *INF- γ* , e compreender suas funções imunológicas para combater a bactéria e associar a suscetibilidade à tuberculose. **Metodologia:** Foram realizadas pesquisas qualitativas em bases nacionais e internacionais, Medline, Scientific Electronic Library On-line (SCIELO), Scholar Google (Google Acadêmico), Pubmed e Biblioteca virtual de saúde (Bvs), considerando elegíveis os estudos nas línguas portuguesa e inglesa, além de livros, teses e dissertações. **Revisão:** Os SNPs são os principais tipos de polimorfismos relacionado à suscetibilidade do indivíduo à doença infecciosa, e podem estar em diferentes regiões do DNA. O envolvimento dos SNPs em doenças infecciosas vem sendo estudados, e muitos experimentos tem sido desenvolvido para identificar os fatores genéticos associados à suscetibilidade à alguma doença, principalmente pela TB. **Conclusão:** Por ser uma doença muito complexa, é importante o avanço de pesquisas genéticas da TB, para entender sobre a atuação dos genes na suscetibilidade do indivíduo a doença. Assim como contribui para o desenvolvimento de vacinas e tratamentos para controlar a doença.

Palavras – chave: Polimorfismos, SNPs, tuberculose.

INTRODUÇÃO

Em 2016, foram notificados cerca de 6,1 milhões de novos casos de tuberculose no mundo, com uma incidência em 2015 de 10,4 milhões de pessoas doentes (WHO, 2017). O Brasil se encontra dentre os 22 países com maior carga da doença no mundo, ficando na 20ª posição. E em 2015 cerca de 69 mil pessoas foram acometidas com a doença no Brasil, sendo que aproximadamente 4,5 mil pessoas morreram de tuberculose, no entanto segundo o coeficiente de incidência de tuberculose houve uma redução de 42,7 em 2001 para 34,2 casos/100.000 habitantes em 2014 no Brasil (BRASIL, 2017).

A TB é causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), se caracteriza por ter uma apresentação clínica que compromete principalmente os pulmões, além de possuir a capacidade de invadir outros órgãos ou também ocorrer de modo disseminado, denominada de tuberculose miliar. (LATRILHA, 2014). A infecção pela Mtb não é suficiente para que haja o progresso da doença na maioria das pessoas, com isso alguns fatores de risco do indivíduo se relacionam com o estado imunológico que este se encontra, e muitos não exibem tais fatores de risco clínicos, no entanto interações de genética e fatores ambientais são sugeridos para causar o desenvolvimento da doença (NASCIMENTO, 2013).

Desta forma, a defesa imune do organismo contra a infecção pela Mtb envolve interações com células T, macrófagos, e produção de citocinas anti e pró-inflamatórias (ALBUQUERQUE et al., 2012). Há anos é discutido que a influência da genética do indivíduo esteja relacionada com a capacidade deste ser suscetível ou resistente a Mtb (NASCIMENTO, 2013).

OBJETIVO

Diante da importância desta temática, este trabalho teve como objetivo descrever sobre polimorfismos nos genes anti e pró-inflamatórios (*TNF- α* e *INF- γ*), que podem levar a suscetibilidade do indivíduo à tuberculose, assim como explicar sobre suas principais funções na resposta imunológica contra a infecção pela *Mycobacterium tuberculosis*, e diferenciar sobre as possíveis variações genéticas nas bases nitrogenadas dos genes supracitados associando à suscetibilidade para a tuberculose.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão bibliográfica com abordagem qualitativa do tipo exploratória. Foram realizadas buscas nas bases eletrônicas nacionais e internacionais Medline, Scientific Electronic Library On-line (SCIELO), Scholar Google (Google Acadêmico), Pubmed e Biblioteca virtual de saúde (Bvs), consideraram-se elegíveis os estudos nas línguas portuguesa e inglesa, além de livros, teses e dissertações. Buscou-se artigos indexados sobre o tema, utilizando as principais palavras-chave: Genes, SNPs, Tuberculose.

REVISÃO

A infecção ocorre pela entrada de cepas de Mtb nas vias aéreas, onde essa bactéria entra no macrófago e assim este é ativado opsonizando essas cepas, e podendo dar início a resposta imune específica ou inata. Essas bactérias fagocitadas irão ser processadas e apresentadas aos linfócitos TCD4+ por meio do MHC II presentes nos macrófagos e células dendríticas, que produzem citocinas inflamatórias (TNF, INF- γ e interleucinas) capazes de recrutar neutrófilos e monócitos até o local onde exista a infecção e assim formar um granuloma para conter a infecção (MOUTINHO, 2011).

Diante disso o bacilo tanto pode ser inibido e morto através da ativação do macrófago como também pode ficar latente no seu interior e se multiplicar, com isso o macrófago possui um importante papel no controle da infecção (TEIXEIRA, 2007).

O envolvimento de polimorfismo de nucleotídeo simples (SNPs) em infecções por patógenos vem sendo amplamente estudados, e experimentos são desenvolvidos com objetivo de identificar marcadores genéticos relacionados à suscetibilidade por alguma doença (KLOTMAN et al., 2006). As variações de polimorfismos podem ocorrer por inserção ou a deleção de um segmento de DNA ao longo do genoma do indivíduo, podendo ser por SNPs, ou pelo padrão de repetição de

nucleotídeos, denominados como número variável de repetições em tandem (VNTR) (GRIFFITHS, 2009).

O TNF- α é uma das citocinas importantes que também é caracterizada pela promoção da resposta inflamatória (OLIVEIRA et al., 2004). O TNF- α desempenha seu papel nos pulmões em resposta a Mtb, na formação do granuloma, e também contribui para um “clearance bacteriano”, participando assim da modulação da inflamação pulmonar. Esta citocina está localizada no cromossomo 6 na região 6q21-33 (OMIN, 2016), e os principais SNPs desse gene estão nas posições -238 e -308 na região promotora, nestes ocorrem a troca de bases G/A, e está relacionada a alterações na expressão gênica e pela secreção da proteína TNF- α está diferente (KALUZA et al., 2000).

O SNP -308 está relacionado ao aumento da transcrição do gene TNF- α (OLIVEIRA et al., 2004). Já o SNP na região -238 se relaciona à diminuta transcrição do gene *TNF- α* , com isso uma inibição na produção dessa citocina na fase inicial da infecção nos pulmões pode gerar uma inflamação persistente, sendo possível que variações de nucleotídeos no gene da TNF- α possam estar associados a polimorfismos genéticos distintos, assim se determina a forma da resposta imune durante a doença (SHAW et al., 2001).

O IFN- γ é responsável pela transcrição de genes envolvidos na atividade antiviral, expressão de proteína de MHC, apoptose, e também o desenvolvimento de células Th1, ativa macrófagos que restringe e mata o crescimento de alvos de micróbios, esta é sintetizada por células T e Natural Killer, estimulando o desenvolvimento de células imunes efetoras, sendo que esta citocina só é produzida a partir de respostas variadas de estímulos inflamatórios. (LINDENAU, 2012). Ainda segundo o autor supracitado, através dessa restrição à alvos microbianos pesquisadores desenvolveram estudos com finalidade de relacionar o gene da IFN- γ a doenças infecciosas.

O gene da IFN- γ está localizado no cromossomo 9 na região 9p21-3 (OMIM, 2013; 2016), este gene é altamente conservado, e seus polimorfismos são encontrados na região intragênica (PRAVICA et al. 2000; PACHECO et al., 2008). O SNP mais significativo para o gene IFN- γ é na região +874 A/T, que está no intrão I (PRAVICA et al., 2000), nisso diversos estudos sobre a associação desse polimorfismo na região +874 A/T surgiu relacionado à tuberculose (PACHECO et al., 2008).

CONCLUSÃO

A tuberculose é uma doença muito complexa, tanto em relação a sua patogenia e seu agente causal, o qual cada vez mais sofre mutações, levando a alterações na sua patogênese e controle. É importante o avanço de pesquisas genéticas da doença, para que se possa elucidar e entender a atuação dos genes na suscetibilidade do indivíduo pela doença, assim a compreensão nas alterações dos genes do *TNF- α* e *INF- γ* tem sido de extrema importância no entendimento da relação com a suscetibilidade, porém ainda é preciso reconhecer os diversos mecanismos moleculares desses genes. Não somente esses genes podem estar envolvidos com a doença, mas também diversos outros podem contribuir para a patogenia da tuberculose, além de muitas dessas associações da suscetibilidade do indivíduo a doença envolverem mais de um gene.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano nacional pelo fim da tuberculose: Brasil livre da tuberculose**. ed. 1. Brasília: Ministério da Saúde. 2017.

FERRAZ, J. C. et al. Immune factors and immunoregulation in tuberculosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, SP, v. 39, n. 11, p. 1387-1397, 2006.

GRIFFITHS, Anthony. Introdução à Genética. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2009.

KALUZA W, Reuss E, Grossmann S, et al. **Different transcriptional activity and in vitro TNF- α production in psoriasis patients carrying the TNF- 238A promoter polymorphism.** J Invest Dermatol. v. 114, p. 1180-3, 2000.

KLOTMAN, M.E. et al. **Defensins in innate antiviral immunity.** Nature Reviews Immunology, London, v. 6, p. 447-456, 2006.

LAKATOS, E. M.; MARCONI, M. A. **Fundamentos de metodologia científica**, 7º Ed. São Paulo: Atlas, 2010

LATRILHA, F. O. **Transmissão e Prevalência da Resistência de Mycobacterium tuberculosis, após a Implantação do DOTS, no Município de Guarulhos no Período de 2007 a 2011.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2014.

NASCIMENTO, André Luiz Alves Do. **Avaliação da associação do polimorfismo genético (-1082 g/a) da interleucina-10 com o risco desenvolvimento da tuberculose pulmonar.** Programa de pós-graduação em medicina tropical (tese de mestrado). 2013.

OLIVEIRA, Martha Maria de. et al. **Distribuição de Polimorfismos de Base única (SNPs) no gene de TNF- α (-238/-308) entre pacientes com TB e outras pneumopatias: Marcadores genéticos de susceptibilidade a ocorrência de TB?** J Bras Pneumol. v. 4, n. 30, p. 461-7, 2004.

PACHECO, A.G. et al. **IFNG +874T/A, IL10 -1082G/A and TNF -308G/A polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study.** Hum Genet. v. 123. P. 477–484, 2008.

PRAVICA V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV. **A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production.** Hum Immunol. v. 61, p. 863–866, 2000.

SHAW MA., Donaldson IJ, Collins A, et al. **Association and linkage of leprosy phenotypes with HLA class II and tumor necrosis factor genes.** Genes Immun. v. 2, p. 196-204, 2001.

TEIXEIRA, H.C et al. **Diagnóstico imunológico da tuberculose: problemas e estratégias para o sucesso.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, São Paulo, v.33, n.3 p.323-334, 2007. **WHO** (WORLD HEALTH ORGANIZATION). Global tuberculosis report. World report 2017. Disponível em: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/. Acessado em: 02 de março de 2018.

AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DE *Boerhavia Diffusa L.* COLETADAS NA REGIÃO DO SEMIÁRIDO MESOTÉRMICO PERNAMBUCANO

*Elizabeth Regina Silva Lucena dos Santos*¹; Rafael Jorge Santos Aracati Padilha²; Ana Luiza Pereira de Lima²; Ricardo Yara³ e Claudia Sampaio de Andrade Lima¹.

¹Departamento de Histologia e embriologia, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife-PE, Brasil.

²Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife-PE, Brasil.

³Departamento de Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife-PE, Brasil.

RESUMO

Introdução: *Boerhavia diffusa L* popularmente conhecida como Pega-pinto, é uma espécie endêmica do semiárido brasileiro e faz parte da diversidade da caatinga, e é muito utilizada na medicina popular para tratamentos das doenças relacionadas ao trato urinário. **Objetivo:** Este trabalho avaliou o potencial antioxidante de *Boerhavia diffusa L.* frente aos testes de difenil-picril-hidrazina (DDPH) e poder redutor. **Metodologia:** Amostras do pega-pinto, oriundas do semiárido pernambucano, foram coletadas e processadas para obtenção do extrato hidroalcoólico. O extrato obtido foi submetido aos ensaios de DPPH e poder redutor nas concentrações de 100, 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL. **Resultado e discussão:** Os testes apresentados obtiveram ótimos resultados, nos dois ensaios; com 85 a 81% de porcentagem de antioxidantes nas maiores concentrações no ensaio de DDPH e 191,08 eq. trolox/g Ext no ensaio de poder redutor na maior concentração. O potencial antioxidante da planta deve-se à natureza dos metabólitos secundários presentes na espécie *Boerhavia diffusa L.* **Conclusão:** Diante dos resultados apresentados neste trabalho, conclui-se que o pega-pinto tem potencial para ser utilizado em diversos ramos industriais.

Palavras Chave: Fitoterápicos, DPPH, Poder redutor, pega-pinto.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade mundial. Suas espécies vegetais são distribuídas em diferentes regiões do país e grande parte destas é usada pelas comunidades para tratamento e cura de enfermidades. A região da caatinga é um biomas essencialmente brasileiro, e é uma das maiores e distintas dentre as regiões do Brasil; possuindo uma grande quantidade de espécies com características únicas pelo estresse hídrico e solar sofrido pelas espécies endêmicas. Porém, ainda há um número incipiente de trabalhos que comprovem a eficácia biológica e o conteúdo fitoquímico das espécies nativas brasileiras (MACIEL et al., 2002; ROQUE; LOIOLA, 2013).

Alguns estudos já comprovam a utilização de plantas utilizadas com fins terapêuticos pela população residente na região de semiárido (ROQUE; LOIOLA, 2013; SILVA; ALBUQUERQUE, 2011). E a partir disso, o desenvolvimento de mais estudos com tais plantas desta região podem averiguar e comprovar a eficiência dos seus compostos, como também detectar problemas ocasionados pelo mau uso dos recursos vegetais, também proporcionando a população alternativas que diminuam o impacto da extração dessas espécies disponíveis na natureza. (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002)

Dentre estas plantas medicinais, pode-se citar a *Boerhavia diffusa* L., que é conhecida popularmente como pega-pinto. Esta espécie é uma planta herbácea, considerada como erva daninha facilmente encontrada em áreas de cultivo e possui hábito perene. Diversas partes da *Boerhavia diffusa* L. como folhas e raízes, são utilizadas em diversos países tropicais, para tratar males do fígado, vesícula, rins e problemas urinários. Na Literatura científica é possível encontrar autores que avaliam as atividades dessa planta quanto a atividade antidiabética, hepatoprotetora, anti-inflamatórios e analgésicos. (HIRUMA-LIMAAD et. al 2000; RAWATA et. al 1997)

Diante disto, o presente trabalho tem como objetivo, avaliar a ação antioxidante de *Boerhavia diffusa* L. através do ensaio difenil-picril-hidrazina (DPPH) e poder redutor.

METODOLOGIA

Coleta e da amostra e procedimento para obtenção do extrato

As amostras de *Boerhavia diffusa* L. foram coletadas no dia 17 de maio de 2017, na cidade de Brejo da Madre de Deus, região do semiárido mesotérmico pernambucano, onde a coordenadas de coleta foram: 8°08'29.6"S 36°20'35.9"W.

Para realização do estudo, a espécie vegetal foi separada em laboratório e foi realizada a identificação botânica com depósito no herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto agrônomo de Pernambuco (IPA), com registro N° 80345. A espécie foi separada e submetida a secagem em estufa de circulação forçada de ar a 45°C, também foi triturada e o extrato bruto foi obtido utilizando álcool etílico 70% (v/v) durante 4 ciclos de 48 horas, em cada ciclo o sobrenadante foi retirado e mais álcool adicionado. O extrato foi submetido à destilação sob vácuo em evaporador rotativo e em seguida levado ao dessecador, para retirada total do solvente.

Avaliação pelo Difenil-picril-hidrazina (DPPH)

O método baseia-se na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar, o DPPH que possui cor púrpura, é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determinou-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres. A partir do extrato etanólico foram preparadas soluções em triplicata das amostras nas seguintes concentrações: 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL. Um controle negativo foi feito pela adição de etanol e DPPH. Adicionou-se a cada concentração de extrato etanólico uma solução de DPPH 2ml, exceto nos brancos, onde foi adicionado o solvente. Após a adição do DPPH, esperou-se 30 minutos e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 515nm (Nascimento et al., 2011). A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada utilizando-se a seguinte equação:

$$\text{Eliminação [DPPH] (\%)} = \frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs controle})}{\text{Abs controle}} \times 100$$

Poder redutor

No teste para detecção do poder redutor, é utilizada uma alíquota de 2,5mL nas seguintes concentrações: 1000, 500, 250, 125, 62,5 mg/mL, misturadas com 0,2M de tampão fosfato, adicionando-se 1,5mL de ferricianeto de potássio (K₃Fe(CN)₆) a 1%. A mistura foi incubada a 50°C em 30 min. Depois foi adicionado 2,5mL de ácido tricloroacético (10%) com 5mL da mistura. A

mesma foi centrifugada em 3000g. Após esse processo, foram retirados 2,5mL do sobrenadante, aos quais foram adicionados 2,5mL de água e 0,5 de cloreto férrico. As amostras são analisadas pela absorbância no comprimento de onda de 700nm. Trolox foi usado como controle positivo (JAYANTHI; LALITHA, 2011; FERREIRA et al., 2007).

RESULTADOS

Os resultados referentes à atividade antioxidante pela redução do radical DPPH se encontram na tabela 1.

Tabela 1: Resultado em porcentagem da ação antioxidante do extrato da folha de *Boerhavia diffusa*, avaliados em 5 concentrações decrescentes.

DDPH					
Espécie/ concentração	1000 µg/mL	500 µg/mL	250 µg/mL	125 µg/mL	62,5 µg/mL
<i>Boerhavia diffusa</i>	81%	85%	83%	59%	22%

Os resultados da antioxidante do poder redutor estão expressos na tabela 2 em equivalente à trolox (mg de trolox/g de Ext.).

Tabela 2: Resultado quantitativo antioxidante do poder redutor expressos em mg trolox/g Ext., em 5 concentrações do extrato folha de *Boerhavia diffusa*.

PODER REDUTOR					
Espécie/ Concentração	1000 µg/ml	500 µg/ml	250 µg/ml	125 µg/ml	62,5 µg/ml
<i>Boerhavia diffusa</i>	191,08	97,78	71,48	37,16	25,05

Como resultado, a espécie *Boerhavia diffusa L.* se apresentou mais de 80% de percentual oxidante encontrado em sua folha nas concentrações de 1000, 500 e 250 µg/ml através do teste de DPPH (Gráfico 1) e para o teste de antioxidante de poder redutor averiguamos altos índices de eq. trolox/g Ext, onde as folhas apresentaram em sua maior concentração de (1000 µg/ml) 191,08 equivalentes de trolox e conseqüentemente nas concentrações inferiores de 500, 250, 125 e 62, µg/ml 5 foi observável proporcional desempenho da amostra (Gráfico 2).

O resultado antioxidante desta amostra pode estar intimamente ligado aos compostos presentes nesta planta, como compostos fenólicos e flavonoides, como descritos em trabalhos anteriores que avaliaram a atividade antioxidante e obtiveram resultados satisfatórios (BHARDWAJ, 2014; TOLULOPE et al., 2010).

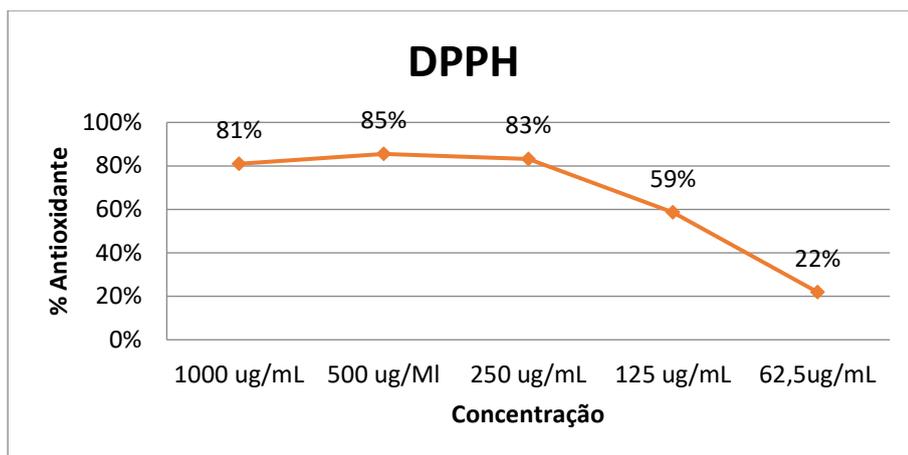


Gráfico 1: Gráfico da curva do percentual antioxidante por DPPH do extrato da folha de *Boerhavia diffusa*.

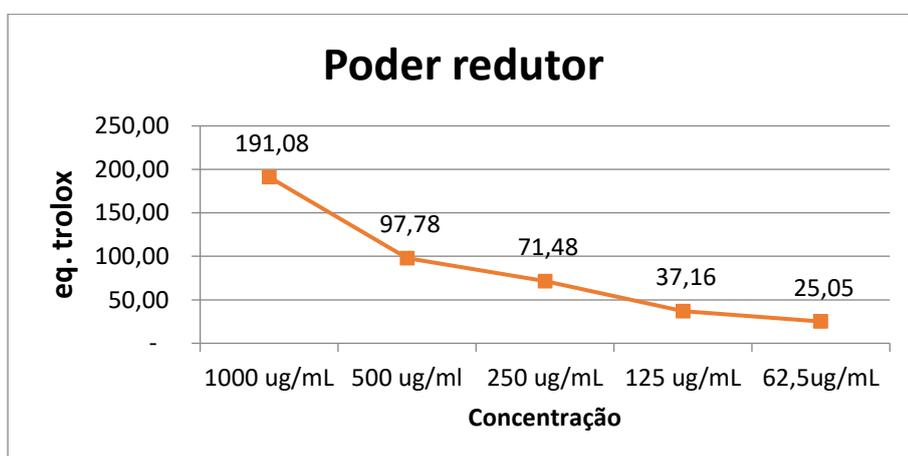


Gráfico 1: Gráfico da curva do percentual antioxidante por Poder redutor do extrato da folha da *Boerhavia diffusa*.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados deste presente trabalho, foi comprovado o potencial antioxidante do extrato hidro alcoólico das folhas de *Boerhavia diffusa L*, confirmando a utilização pela medicina popular da espécie. Ressalta-se o alto consumo desta espécie pela população do semiárido como fitoterápico, tanto devido a sua fácil ocorrência quanto a sua utilização para diversos fins, sendo uma fonte promissora para a produção e comercialização de produtos farmacêuticos industriais.

REFERÊNCIAS

Albuquerque, UP.; Andrade, LHC. 2002. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Acta Botanica Brasilica, São Paulo, Vol. 16,p. 273-285.

Bhardwaj, R.; Ankita, Y.; Sharma RA. Phytochemicals And Antioxidant Activity In Boerhavia Diffusa. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol 6. 2014.

Ferreira, ICFR.; Baptista, P.; Villas-Boas, M.; Barros, L. 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry* Vol. 100. p. 1511–1516.

Hiruma-Limaad, CA.; Gracioso, JS.; Bighettib, EJB.; Germonsén, RL.; A.R.M.; Souza, B. The juice of fresh leaves of *Boerhaavia diffusa* L. (Nyctaginaceae) markedly reduces pain in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 71, p. 267-274. 2000.

Jayanthi, P.; Lalitha, P. 2011. Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol, 3, p. 126-128.

Maciel, MAM; Pinto, AC; Veiga Jr, VF; Grynberg, NF; Echevarria, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim. Nova*, v 25, p 429-438, 2002.

Rawata, AKS.; Mehrotra, A.; Tripathib, SC.; Shomea, U. Hepatoprotective activity of *Boerhaavia diffusa* L. roots — a popular Indian ethnomedicine. *Journal of Ethnopharmacology* Vol 56, p. 61-66. 1997.

Roque, A.A.; Loiola, M.I.B. Potencial de uso dos recursos vegetais em uma comunidade rural no semiárido potiguar. *Revista Caatinga*, v. 26, n. 4, p. 88-98, 2013.

Silva, ACO.; Albuquerque, UP. 2011. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). *Acta Botanica Brasilica*, Vol.19, p.17-26.

Tolulope, M.; Afolabi, O.; Adebayo, CA.; Afolabi, AO.; Akindahunsi, A. 2010. Antioxidant activity and hepatoprotective property of leaf extracts of *Boerhaavia diffusa* Linn against acetaminophen-induced liver damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 48. p.2200-2205.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DOS GALHOS DA *Anadenanthera colubrina* (VELL.) BRENAN

Roger Luis da Silva¹, Elys Karine Carvalho da Silva¹, Márcia Vanusa da Silva¹

¹ Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil.

Resumo

Introdução. Com o intuito de comprovar o potencial biológico dos compostos metabolizados pelas plantas, estudos vêm sendo realizados, como por exemplo, com as espécies vegetais encontradas na Caatinga. **Objetivos.** Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo determinar o potencial antioxidante e a citotoxicidade dos extratos metanólico e aquoso de ramos da espécie *Anadenanthera colubrina*. **Metodologias.** A atividade antioxidante destes extratos foi determinada de acordo com o método de fosfomolibdênio ou Atividade Antioxidante Total e a citotoxicidade a partir da atividade hemolítica *in vitro*. **Resultados.** A porcentagem de atividade antioxidante total (%AAT) do extrato aquoso foi de 137,65%, enquanto o metanólico foi de 34,35%. Os dois extratos testados não causaram hemólise significativa das hemácias no teste da atividade hemolítica. Os resultados obtidos mostram que a *A. colubrina* apresenta potencial atividade antioxidante; que a água, neste estudo, foi um melhor solvente extrator de compostos biológicos quando comparado ao metanol e, por fim, que mais estudos são importantes para elucidar as atividades biológicas da espécie vegetal estudada.

Palavras-chave: Atividade Antioxidante Total; Citotoxicidade; Caatinga; *Anadenanthera colubrina*.

INTRODUÇÃO

No ano de 2006 a Organização Mundial de Saúde (OMS), demonstrou que embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maior parte do mundo, grande parte da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para sua atenção primária, tendo em vista que 80% desta população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde.

Um dos biomas exclusivamente brasileiro que apresenta riqueza em plantas medicinais por causa da sua produção de metabólitos secundários é o bioma da Caatinga. Albuquerque (2000) e Maia (2004) citam que estudos realizados em alguns estados do Nordeste revelam que a vegetação da Caatinga possui diversas utilidades, além de apresentarem uma grande importância biológica; essa formação vegetal apresenta um considerável potencial econômico, com espécies que podem ser utilizadas como forrageiras, frutíferas, madeireiras e de uso medicinais. Algumas dessas plantas medicinais conseguem sobreviver em condições adversas, inclusive após longos períodos de estiagem, e como estratégia de sobrevivência produzem um número maior de metabólitos secundários (SILVA, 2008).

As plantas do gênero *Anadenanthera* pertencem à subfamília Mimosoideae da família Fabaceae, que é a terceira maior família de angiospermas. Em 1964 o pesquisador Siri Von Reis Altschul em sua revisão taxonômica estabeleceu que este gênero é composto por duas espécies, *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina* (TORRES, REPKE, 2006). Ela é uma planta bastante usada na medicina popular, em infusão, maceração e tinturas, como antidiarreico e no tratamento das infecções pulmonares e vias respiratórias, bronquites, tosses, faringites e asma (BALBACH, 1992).

Em condições adversas ocorre uma superprodução das espécies reativas e as enzimas responsáveis pela sua decomposição não conseguem transformar todas as moléculas produzidas, deixando escapar algumas. Essas espécies reativas de oxigênio quando reagem com uma molécula normal, desencadeiam imediatamente uma reação em cascata, originando um grande número de novos radicais livres (CAMPOS, 2005). Tem sido estimado que sob condições fisiológicas o balanço entre compostos pró-oxidantes e antioxidantes moderadamente favorece os primeiros, dessa forma incitando um leve estresse oxidativo, sendo necessário, por conseguinte a intervenção dos sistemas antioxidantes (LUSHCHAK, 2014).

As plantas podem conter grande variedade de moléculas sequestrantes de radicais livres, como compostos fenólicos das classes dos flavonóides, quinonas, cumarinas, lignanas e taninos, por isso possuem atividade antioxidante (REDDY; ODHAV; BHOOLA, 2003).

OBJETIVO

Determinar o potencial antioxidante e a citotoxicidade dos extratos metanólico e aquoso de ramos da *Anadenanthera colubrina* por ensaios *in vitro*.

METODOLOGIA

Material vegetal

Os materiais foram coletados na Caatinga (Parque Nacional do Vale do Catimbau, Buíque-PE). O material foi acondicionado em sacos de papel e levados a estufa de circulação de ar por um período de três dias, até o material atingir peso constante. O material testemunho foi coletado e processado seguindo as técnicas usuais em taxonomia, sendo este depositado no Herbário IPA, do Instituto Agrônomo de Pernambuco.

Preparação dos extratos

O processo de extração foi realizado misturando 10 g do pó moído com 100 mL dos solventes, após isso, foram submetidos à agitação por uma hora em um shaker. Depois de agitar, o extrato foi filtrado em papel de filtro. Este procedimento foi repetido três vezes para cada solvente.

Atividade Antioxidante Total ou Método de Fosfomolibdênio

De cada amostra 0,1 mL foi misturado a 1 mL da solução de fosfomolibdênio (600 mM de ácido sulfúrico, 28 mM de fosfato de sódio e 4 mM de molibdato de amônio), e posteriormente incubados em água a 95 °C durante 90 minutos. Quando voltaram à temperatura ambiente, as absorbâncias das amostras foram medidas a 695 nm (PRIETRO et al., 1999). A atividade foi expressa em relação ao ácido ascórbico, calculada e comparada com a atividade do Ácido Gálico.

Atividade hemolítica

O ensaio de atividade hemolítica foi realizado de acordo com Oliveira et al. (2012). O sangue utilizado para o experimento foi obtido a partir da coleta em tubo de citrato de um voluntário saudável e não fumante, após assinatura do documento de consentimento. Após centrifugação a 3000 rpm por 6 min, os eritrócitos restantes foram lavados por três vezes com tampão fosfato-salina e ressuspendidos com a mesma solução. Em seguida adicionou-se 1,1 mL da suspensão de eritrócitos e 0,4 mL dos extratos. Após incubação de 60 min a temperatura ambiente, os tubos foram centrifugados e o sobrenadante foi utilizado para medir a absorbância da hemoglobina liberada em

um comprimento de onda de 540nm. A atividade hemolítica foi expressa em relação à atividade do Triton X- 100.

RESULTADOS

Método de fosfomolibdênio ou atividade antioxidante total

O método de fosfomolibdênio, foi realizado com base na metodologia descrita por Prieto et al. (1999), e é baseado na redução do Mo (VI) para Mo (V) pela ação da amostra analisada e a subsequente formação de um complexo fosfato/Mo(V) de coloração verde em pH ácido. A atividade antioxidante total (AAT) foi expressa em relação ao ácido ascórbico, utilizado como padrão, pois apresenta uma ótima atividade antioxidante.

O aumento da capacidade antioxidante total está diretamente relacionado com o aumento da absorbância das amostras testadas. Por isso, os dois extratos exibiram atividades significantes. O extrato aquoso (137,65 %) apresentou maior atividade antioxidante total em relação ao extrato metanólico (34,35%) e ao ácido ascórbico (100%), como mostra a figura 1.

Figura 1: Porcentagem de Atividade Antioxidante Total (%)



Fonte: A autora (2017)

Em resultados obtidos por Pourmorad et al. (2006), o extrato testado que continha maior conteúdo de compostos fenólicos e flavonóides exibiu melhor atividade antioxidante em comparação com os outros. Segundo Sartori et al. (2014) as cascas da *Anadenanthera peregrina*, representante do mesmo gênero da *Anadenanthera colubrina*, apresentaram valores médios de fenóis de 11,73%.

Em testes realizados por da Silva et al. (2011), o extrato hidroalcoólico da *A. colubrina* apresentou atividade antioxidante total de 24.81%, o que mostra que comparado aos extratos utilizados no presente estudo, o aquoso ainda é o que apresenta melhor atividade.

Atividade hemolítica

A prática do uso de plantas medicinais pode se tornar perigosa quando realizada sem orientação, pois muitas plantas podem apresentar difícil identificação, composição química variável e relativa toxicidade (FÉLIX-SILVA et al., 2012). Em laboratórios, o teste de hemólise *in vitro* vem sendo empregado rotineiramente em estudos de toxicidade de plantas medicinais. Este ensaio

biológico é considerado essencial como estudo preliminar de compostos com potenciais atividades biológicas (KALEGARI et al., 2011).

Os extratos aquoso e metanólico da *A. colubrina* não causaram hemólise nos eritrócitos. Embora tenha sido observada a presença de compostos, como os fenóis, conhecidos por serem responsáveis por uma atividade hemolítica, pois podem oxidar a hemoglobina, as concentrações presentes nos extratos testados não foram suficientes para causar hemólise.

Ensaio de atividade hemolítica realizados por Colacite (2015) mostraram que a *A. colubrina* mostrou-se tóxica na maior concentração testada (4000 µg/mL), enquanto nas demais (2000 µg/mL, 1000µg/mL e 500 µg/mL) apresentou baixa toxicidade.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que os extratos metanólico e aquoso dos ramos da *Anadenanthera colubrina* apresentaram uma considerável atividade antioxidante em todos os ensaios testados e possuem quantidades substanciais de compostos fenólicos. Assim, esta espécie pode ser considerada uma boa fonte de antioxidantes.

Apesar dos dois solventes serem capazes de extrair compostos biológicos, o extrato aquoso apresentou melhores resultados nos testes da atividade antioxidante.

Quanto à atividade hemolítica testada, os dois extratos não causaram hemólise, logo não apresentam citotoxicidade significativa neste parâmetro.

São necessários mais estudos para isolar os compostos bioativos responsáveis pelos resultados positivos obtidos e para avaliar mais detalhadamente sua capacidade antioxidante.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P. A etnobotânica no nordeste brasileiro. In: CAVALCANTI, T. B. E.; WALTER, B. M. T. **Tópicos atuais em Botânica**. Brasília: EMBRAPA, São Paulo. Sociedade Botânica do Brasil, p. 241-249, 2000.

COLACITE, J. Triagem fitoquímica, análise antimicrobiana e citotóxica e dos extratos das plantas: *Schinus terebinthifolia*, *Maytenus ilicifolia* REISSEK, *Tabebuia avellanedae*, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENAN. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 3, p. 509-516, set./dez, 2015.

FÉLIX-SILVA, J.; TOMAZ, I. M.; SILVA, M. G; SANTOS, K. S. C. R.; SILVA JÚNIOR, A. A.; CARVALHO, M. C. R. D.; SOARES, L. A. L.; FERNANDES PEDROSA, M. F. Identificação botânica e química de espécies vegetais de uso popular no Rio Grande do Norte, Brasil. **Rev. Bras. Plantas Med.**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 548-555, 2012.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, v. 224, p. 164–175, dez, 2014.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z Computação Gráfica e Editora. ed. 1, p. 413, 2004.

POURMORAD, F.; HOSSEINIMEHR, S. J.; SHAHABIMAJD, N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**. v. 5 (11), p. 1142-1145, Jun, 2006.

SILVA, C. A.; PAULA JÚNIOR, T. J.; TEIXEIRA, H. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. **Rev. Bras. de Plan. Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 3, p. 57-60, 2008.

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE LECTINA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM EXTRATO DE RAIZ DE *Borreria verticillata*

Juliane Nancy de Oliveira Silva¹; Pollyanna Michelle da Silva¹; Thiago Henrique Napoleão¹; Patrícia Maria Guedes Paiva¹

¹Universidade Federal de Pernambuco

Sumário: Lectinas são proteínas que ligam carboidratos, sendo capazes de aglutinar células e promover diversas atividades biológicas. *Borreria verticillata* (vassoura-de-botão, Rubiaceae) é uma planta usada na medicina popular e possui ação antimicrobiana. O objetivo desse trabalho foi avaliar a presença de lectina em extrato salino de raiz de *Borreria verticillata* e avaliar a atividade antibacteriana contra espécies de *Pectobacterium*. Extrato salino (10%, p/v) foi tratado com sulfato de amônio em diferentes concentrações (0-30%, 30-60% e 60-90%) e as frações obtidas foram avaliadas quanto a concentração proteica e atividade hemaglutinante (AH). Atividade antibacteriana foi avaliada através da determinação das concentrações mínima inibitória (CMI) e mínima bactericida (CMB). Foi detectada a presença de lectinas no extrato, as quais podem ser purificadas parcialmente de forma mais eficiente por cromatografia do extrato em coluna de quitina. O extrato apresentou concentração mínima inibitória (CMI = 360 µg/mL) contra *P. carotovorum* isolado de pimentão e *Pectobacterium* sp. isolado de rúcula. Em conclusão, o extrato de raiz de *B. verticillata* é fonte de lectinas e apresentou ação bacteriostática contra fitopatógenos de importância econômica.

Palavras-chave: *Borreria verticillata*; lectina; *Pectobacterium*

INTRODUÇÃO

Os seres humanos têm utilizado as plantas como fonte de medicamentos desde a Pré-História. Nas últimas décadas, vem crescendo o interesse em medicamentos naturais devido aos altos custos e efeitos adversos dos medicamentos convencionais e à resistência microbiana. Neste cenário, é notável o crescente interesse em estudos que avaliam propriedades medicinais de compostos de origem vegetal (ARAÚJO *et al.*, 2011; MARTINS *et al.* 2015; JESUTHASAN *et al.*, 2017).

As lectinas constituem um grupo heterogêneo de proteínas de origem não imunológica, capazes de induzir a aglutinação de diferentes tipos de células ao interagirem com glicoconjugados presentes na superfície celular. São amplamente distribuídas na natureza. Nas plantas, têm sido isoladas de sementes, folhas, flores, cascas, rizomas e raízes, sendo detectadas em materiais biológicos através de ensaios de aglutinação (COELHO *et al.*, 2017). Devido a sua capacidade de interação com os carboidratos, as lectinas apresentam diversas atividades biológicas, tais como ação antimicrobiana e inseticida (PAIVA *et al.*, 2013; NAPOLEÃO, *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2016). Exemplos de lectinas isoladas de plantas identificadas como agentes antimicrobianos são SteLL, isolada de folhas de *Schinus terebinthifolius*; WSMoL, isolada de sementes de *Moringa oleifera*; PgTeL isolada da sarcotesta de *Punica granatum*; e CasuL isolada de folhas de *Calliandra surinamensis* (GOMES *et al.*, 2013; MOURA *et al.*, 2015; SILVA, *et al.* 2016; PROCÓPIO *et al.*, 2017).

Borreria verticillata conhecida popularmente como “vassoura-de-botão”, é uma pequena erva com distribuição desde o sul dos Estados Unidos até a América do Sul. Pertence à família

Rubiaceae, ocorre em todo Brasil e é utilizada na medicina popular por possuir ação analgésica e antitérmica (MOREIRA *et al.*, 2010). Extrato metanólico de raiz mostrou atividade antibacteriana sobre *Pseudomonas aeruginosa* (NETO *et al.*, 2002). Suas folhas contêm lectina que pode ser purificada parcialmente após precipitação com sulfato de amônio (CALDAS *et al.*, 2011). Extrato salino de folhas mostrou atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (SILVA, *et al.*, 2015) enquanto o extrato salino, fração proteica e lectina apresentaram atividade termiticida contra os cupins *Nasutitermes corniger* (SILVA, *et al.*, 2015).

OBJETIVO

Avaliar a presença de lectina e de atividade antimicrobiana, em extrato salino de raiz de *B. verticillata*.

METODOLOGIA

Extração de proteínas: Raízes de *B. verticillata* foram trituradas em processador e o pó foi misturado em solução de NaCl 0,15 M, na proporção de 10% (p/v). A mistura foi submetida a agitação constante (16 h, 25 °C) e, após filtração em gaze e centrifugação (9000rpm, 15min, 25°C), o sobrenadante coletado foi denominado extrato bruto.

Determinação da concentração de proteínas: A dosagem de proteínas foi efetuada de acordo com Lowry *et al.* (1951), utilizando-se curva padrão de albumina sérica bovina (31,25–500 µg/mL).

Atividade hemaglutinante (AH): A determinação da AH foi realizada de acordo com Paiva & Coelho (1992) utilizando eritrócitos de coelho fixados em glutaraldeído. A AH foi definida como o inverso da maior diluição em que a aglutinação foi observada e a AH específica (AHE) correspondeu a razão entre a AH e a concentração proteica (mg/mL).

Obtenção de frações proteicas: O extrato foi tratado com diferentes concentrações de sulfato de amônio (0-30%, 30-60% e 60-90%) sob agitação constante durante 4 h a 25 °C. Após centrifugação (9000 rpm, 15 min, 25°C), as frações coletadas (precipitadas e sobrenadantes) foram dialisadas contra água destilada (4 h) e avaliadas quanto à AH e concentração de proteínas.

Cromatografia em coluna de quitina: Extrato bruto ou a fração proteica com maior AHE foi cromatografado em coluna de quitina equilibrada com NaCl 0,15 M. Proteínas adsorvidas foram eluídas com ácido acético 1,0 M e dialisadas contra água destilada para remoção do eluente. Os picos proteicos obtidos foram avaliados quanto à concentração de proteínas e AH.

Atividade antimicrobiana sobre espécies de *Pectobacterium*: O ensaio foi realizado de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2012). A concentração mínima inibitória (CMI) e a concentração mínima bactericida (CMB) do extrato foram determinadas.

RESULTADOS

A partir de 90 mL de extrato salino foram extraídas 1,35 mg de proteínas. O extrato apresentou atividade hemaglutinante (Tabela 1), sendo então submetido ao processo de fracionamento salino com sulfato de amônio em três saturações sucessivas (0-30%, 30-60% e 60-80%). Foi detectado um aumento da atividade hemaglutinante específica (AHE) na fração sobrenadante (FS) 30-60% (Tabela 1).

Tabela 1. Rastreamento da presença de lectinas por fracionamento com sulfato de amônio do extrato de raiz de *Borreria verticillata*.

Preparação	Proteína (mg/mL)	AH	AHE
Extrato	0,9	16	17,7
FS30%	0,15	2	13,3
FP30%	4	32	8
FS30-60%	0,04	8	200
FP30-60%	3,6	8	2,2
FS60-90%	0,008	0	--
FP60-90%	0,18	0	--

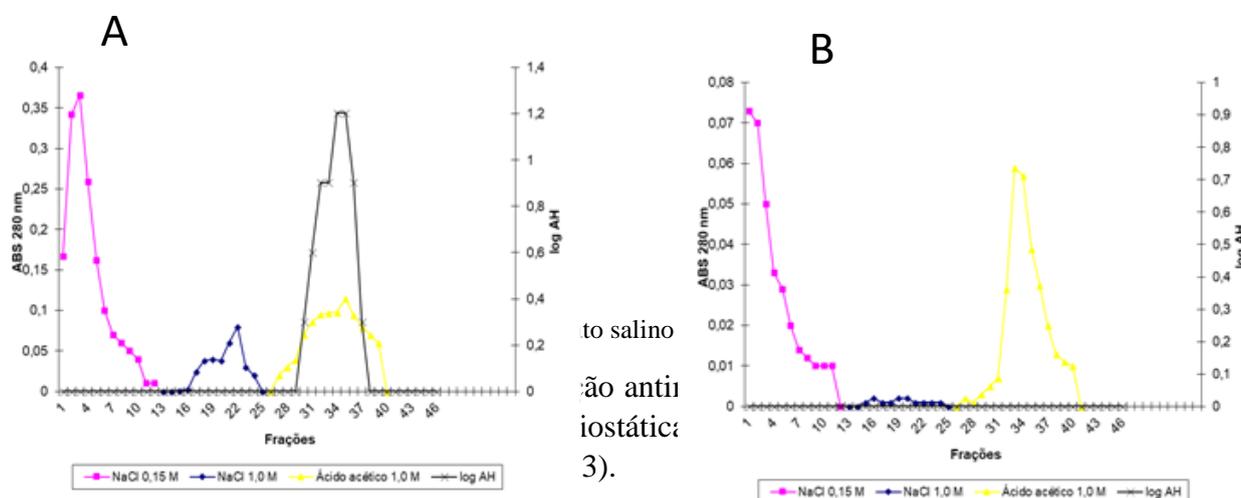
Atividade hemaglutinante (AH) avaliada com eritrócitos de coelho; AHE: AH específica. FP: fração de proteínas precipitadas. FS: fração sobrenadante.

Porém, cromatografia de FS30-60% em cromatografia em coluna de quitina (Figura 1B) não resultou em picos proteicos com AH. Sendo assim, o extrato foi submetido ao processo cromatográfico, cujo perfil apresentou um único pico proteico ativo (Figura 1A) obtido após eluição com ácido acético 1,0 M e com AHE de 941, correspondendo a um fator de purificação de 53,1 (Tabela 2).

Tabela 2. Purificação de lectinas presentes em extrato de raiz de *Borreria verticillata*

Amostra	Proteínas (mg/mL)	AH (título ⁻¹)	AHE	Fator de purificação
Extrato	0,9	16	17,7	1,0
Lectina	0,017	16	941	53,1

Atividade hemaglutinante (AH) determinada com eritrócitos de coelho. Atividade hemaglutinante específica (AHE). O fator de purificação foi calculado através da razão entre a AHE da amostra e a AHE do extrato.



CONCLUSÃO

Raízes de *B. verticillata* são fontes de lectinas que podem ser extraídas em solução salina e parcialmente purificadas por cromatografia em coluna de quitina. Ainda, o extrato apresentou ação bacteriostática contra fitopatógenos de importância econômica.

Tabela 3: Atividade antibacteriana de extrato salino de *Borreria verticillata*

Bactéria	Extrato salino	
	CMI	CMB
<i>Pectobacterium carotovorum brasiliensis</i> (Couve)	ND	---
<i>Pectobacterium carotovorum carotovorum</i> (Pimentão)	360	ND
<i>Pectobacterium sp.</i> (Rúcula)	360	ND
<i>Pectobacterium sp.</i> (Alface)	ND	---

Valores expressos em µg/mL. ND: não detectado. (---): não avaliado.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R. M. S. *et al.* Lectin from *Crataeva tapia* bark exerts antitumor, anti-inflammatory and analgesic activities. *Natural Products and Bioprospecting*, v. 1, n. 2, p. 97 – 100, 2011.

CALDAS, L. H. M. *et al.* Lectin Activity in Preparations of *Borreria verticillata* Leaves. XL Annual Meeting of Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society (2011).

COCKERILL, F. Clinical and Laboratory Standards Institute 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement. I n: Clinical and Laboratory Standards Institute (Series), p. M100-M121.

COELHO, L. C. B. B. *et al.* Lectins, interconnecting proteins with biotechnological/pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2017, 2017.

GOMES, F. S. *et al.* Antimicrobial lectin from *S chinus terebinthifolius* leaf. *Journal of applied microbiology*, v. 114, n. 3, p. 672-679, 2013.

JESUTHASAN, A. S.; ULUWADUGE, D. I. Ethnobotanics used in folk medicine of Tamil culture in Sri Lanka: a scientific review. *Journal of integrative medicine*, v. 15, n. 1, p. 19-26, 2017.

LOWRY, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193, 265–275.

MARTINS, N. *et al.* Plants used in folk medicine: the potential of their hydromethanolic extracts against *Candida* species. *Industrial Crops and Products*, v. 66, p. 62-67, 2015.

MOREIRA, V. F., OLIVEIRA, R. R., MATHIAS, L., FILHO, R. B., VIEIRA, I. J. C. New Chemical Constituents from *Borreria verticillata* (Rubiaceae). *Helvetica Chimica Acta* – Vol. 93 (2010).

MOURA, M. C. et al. Water-soluble *Moringa oleifera* lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. *Journal of applied microbiology*, v. 119, n. 3, p. 666-676, 2015.

NAPOLEÃO, T. H., et al. Affinity Matrices of *Cratylia mollis* Seed Lectins for Isolation of Glycoproteins from Complex Protein Mixtures. *Appl Biochem Biotechnol* 171:744-755 (2013).

NETO, P. A. S. P.; SILVA, M. V.; CAMPOS, N. V. C.; PORFÍRIO, Z.; CAETANO, L. C. Antibacterial activity of *Borreria verticillata* roots. *Fitoterapia* 73 (2002) 529-531 (2002).

PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu bean). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 36, p. 113-118, 1992.

PAIVA, P.M.G. et al. Protease inhibitors from plants: Biotechnological insights with emphasis on their effects on microbial pathogens. In: MÉNDEZ-VILLAS, A. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. Badajoz: Formatex Research Center, 2013.

PROCÓPIO, T. F. et al. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. *International journal of biological macromolecules*, v. 98, p. 419-429, 2017.

SILVA, C. D. et al. Larvicidal Effect Against *Aedes aegypti* of a *Borreria verticillata* leaves extract with lectin activity. 23 Congress of the International Union for Biochemistry and Molecular Biology (2015).

SILVA, C. D.; SÁ, R. A.; (2015) Lectinas de *Borreria verticillata*: avaliação de atividade inseticida contra gorgulho de milho *Sitophilus zeamais* e sobre cupins *Nasutitermes corniger* (termidae). XXIII CONIC, VII CONITI, IV ENIC.

SILVA, P. M. et al. The Juicy sarcotesta of *Punica granatum* contains a lectin that affects growth, survival as well as adherence and invasive capacities of human pathogenic bacteria. *Journal of Functional Foods* 27 (2016) 695 – 702 (2016).

AVALIAÇÃO DO CONHECIMENTO POPULAR SOBRE ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Nicole Dafne Rocha Acioli Tavares¹; Eduarda Alves de Paula Melo Santos²; Mariana AndradeFigueiredo³

1 Docente do curso de Biomedicina Unifavip ; 2 Docente do curso de Biomedicina Unifavip; 3 Professora Dra. dos cursos de Saúde Wyden Brasil

RESUMO

INTRODUÇÃO: Aconselhamento Genético é o trabalho de uma equipe multidisciplinar e capacitada na área de genética com competência suficiente para atender os requisitos necessários para dar suporte humanizado ao paciente instruindo inclusive sua família, quanto a algum risco de desenvolvimento ou ocorrência de uma doença de origem genética, e finalmente as adaptações que o paciente e/ou família terá que se submeter para evitar ou lidar com este distúrbio. O Sistema Único de Saúde ainda hoje não disponibiliza este tipo de atendimento para a população, resultando em um aumento da dificuldade de um diagnóstico fidedigno. **OBJETIVO:** Avaliar e verificar o conhecimento de indivíduos residentes na cidade de Caruaru-PE quanto ao que significa o Aconselhamento Genético e evidenciar a importância de introduzir este atendimento ao SUS. **METODOLOGIA:** Estudo realizado por meio de artigos pesquisados no EBSCO, Scielo e uma pesquisa de campo junto com a elaboração de um questionário aplicado à indivíduos residentes de Caruaru-PE. Foi necessária uma abordagem aleatória. **RESULTADOS:** A pesquisa foi realizada com 14 entrevistados escolhidos de forma aleatória. Como descrito na tabela 2, 85,8% dos entrevistados nunca ouviram falar sobre o aconselhamento genético. Diante dos dados coletados, observou-se que 35,7% afirmam ter algum histórico familiar de câncer, hipertensão e diabetes; 28,6% afirmam não saber se houve ou tem alguma doença de caráter genético ou hereditário. **CONCLUSÃO:** Há necessidade de esclarecimento à população sobre aconselhamento genético e a inclusão deste ao sistema de saúde brasileiro trará um grande benefício à sociedade.

Palavras-chave: Aconselhamento genético; promoção a saúde; interdisciplinaridade; SUS.

1. INTRODUÇÃO

O que melhor define o Aconselhamento Genético (AG) é o conceito de uma equipe interdisciplinar profissional para lidar e instruir pacientes e sua família quanto a algum risco de desenvolvimento ou ocorrência de uma doença de origem genética explicando cuidadosamente fatores clínicos, seu diagnóstico, possíveis recorrências na família no caso da hereditariedade, as possibilidades do curso que a doença pode adotar e finalmente as adaptações que o paciente e/ou família terá que se submeter para evitar ou lidar com este distúrbio (SOARES, 2016).

O Sistema Único de Saúde (SUS) ainda hoje não disponibiliza este tipo de atendimento para a população, resultando em um aumento da dificuldade de um diagnóstico fidedigno ou até um falso-negativo baseado em hipóteses com direcionamento muito distinto da realidade. O AG busca

proporcionar o melhor para o paciente desde risco e prevenção até tratamento e esclarecimento de qualquer assunto que o envolva doenças genéticas (BRUNONI, 2002).

Segundo Brunoni (2002) o documento feito pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 1984 sobre “Prevenção e controle de enfermidades genéticas e defeitos congênitos” refletiu sobre a importância e necessidade dos países aplicarem a promoção à saúde para patologias de origem genéticas e da imperfeição congênita; após pouco mais de 30 anos isto não foi posto em prática.

Hoje existem clínicas pelo Brasil especializadas na área de genética clínica direcionadas especificamente para aconselhamento genético. Geralmente indicadas para mulheres que desejam engravidar após os 35 anos de idade ou que já tenham um histórico de doença comum na família e até abortos espontâneos anteriores, entre outras indicações, porém todo o processo além de ser particular há limitações devido a escassez de clínicas no país. A maioria das clínicas situam-se em Minas Gerais e São Paulo (PENA, 2015)

O foco para o geneticista que irá fazer a consulta é realizar uma árvore genealógica do paciente verificando a história de doença genética daquela família e realizar o cruzamento das informações para assegurar uma hipótese de que há ou não a possibilidade de um desenvolvimento patológico para o paciente ou para as futuras gerações. (COTTA, 2015)

Segundo a Organização Mundial de Saúde cerca de 7,6 milhões de crianças nascem com algum “defeito” genético grave, isto em todo o mundo. Há o envolvimento ambiental, socioeconômico e genético sendo que mais de 80% dos casos são observados em países subdesenvolvidos. De acordo com Meira (2009), como geralmente as doenças genéticas são raras, os recursos para o diagnóstico e tratamento são escassos e extremamente caros.

A prevenção, diagnóstico e tratamento precoce de indivíduos acometidos iriam gerar menos gastos em longo prazo, melhorando a qualidade de vida destes pacientes. O acometimento congênito vem obtendo uma grande taxa de morbidade e mortalidade, um problema de saúde pública pouco discutido entre a população, imperceptível aos olhos brasileiros. Em vista da discussão feita por Ramalho em 2007, o Aconselhamento Genético (AG) vem como uma oportunidade de orientação genética para aqueles que têm a probabilidade de transmitir algum tipo de condição de origem genética a sua prole.

Um desafio apontado foi à formação de profissionais capacitados na área para um atendimento de qualidade. A cada seis meses são formados milhões de universitários, em diversas áreas, e o mercado de trabalho encontram-se sobrecarregado, gerando desemprego. Há um conjunto de situações que impedem a implementação do AG no nosso sistema de saúde, sendo o investimento oneroso e não dependente apenas de políticas públicas e do governo em fornecer o serviço, mas também depende de profissionais capacitados.

2. METODOLOGIA

2.1 Tipo de estudo:

Estudo realizado por meio de artigos pesquisados em bases de dados de periódicos, bem como pesquisa de campo com a elaboração de um questionário aplicado para indivíduos residentes da cidade de Caruaru-PE.

2.2 Objetivo:

Avaliar e verificar o conhecimento de indivíduos residentes na cidade de Caruaru-PE quanto ao que significa o Aconselhamento Genético e evidenciar a importância de introduzir este atendimento ao Sistema Único de Saúde.

2.3 Coleta de dados:

Para realizar esse trabalho foi realizado um levantamento de artigos na literatura para um apoio ao direcionamento da pesquisa. Os periódicos originais consultados foram localizados nas seguintes bases de dados: plataforma EBSCO, PUBMED, Scientific Electronic Library Online (SCIELO) e Google Acadêmico, publicados no período 2000 a 2018, com os seguintes termos: Aconselhamento genético; promoção a saúde; interdisciplinaridade; SUS. Foi elaborado um questionário sobre o conhecimento dos indivíduos sobre AG e histórico de doenças genéticas na família. O questionário foi aplicado para indivíduos residentes da cidade de Caruaru-PE

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa foi realizada com 14 entrevistados escolhidos de forma aleatória. Foi possível observar que 71,5% dos participantes não apresentam plano de saúde (Tabela 1). Como descrito na tabela 2, 85,8% dos entrevistados nunca ouviram falar sobre o aconselhamento genético. Outra pergunta do questionário foi se acreditavam que o Sistema Único de Saúde melhoraria com o ingresso de um novo atendimento ao público (Tabela 3). Dois dos quatorze participantes responderam “não” e explicaram verbalmente o seu motivo. Explicaram que acham o sistema de saúde falho para diversas situações consideradas para eles mais importantes e um novo atendimento, por mais que também tenha uma importância, em suas opiniões não iria fornecer nenhum tipo de incremento à saúde.

Observou-se que existe uma noção do que significa AG na população, porém tratam como algo de pouca importância pública. Diante dos dados coletados, 35,7% afirmam ter algum histórico familiar de câncer de próstata, câncer de colo do útero, câncer de mama, hipertensão e diabetes; e 28,6% afirmam não saber se houve ou tem alguma doença de caráter genético ou hereditário (Tabela 4).

Tabela 1- Frequência de indivíduos que possuem plano de saúde dentre os participantes. Caruaru-PE, 2017

Participantes	n	%
Possuem plano de saúde	4	28,5
Não possuem plano de saúde	10	71,5
Total	14	100

Tabela 2- Frequência de entrevistados que apresentam algum conhecimento sobre aconselhamento genético. Caruaru-PE, 2017.

Participantes	n	%
Sim	2	14,2
Não	12	85,8
Total	14	100

Tabela 3- Frequência de pessoas que acreditam em uma ampliação do Sistema Único de Saúde, caso o Aconselhamento Genético seja ingressado ao sistema de saúde. Caruaru-PE, 2017.

Participantes	n	%
Sim	12	85,8
Não	2	14,2
Total	14	100

Tabela 4- Frequência de histórico familiar de doença genética dentre os participantes. Caruaru-PE, 2017.

Participantes	n	%
Sim	5	35,7
Não	5	35,7
Não sabem informar	4	28,6
Total	14	100

4. CONCLUSÃO

Há necessidade de esclarecimento à população sobre aconselhamento genético e a inclusão deste ao sistema de saúde brasileiro trará um grande benefício à sociedade.

REFERÊNCIAS

SOARES, J. L. S. et al. ACONSELHAMENTO GENETICO NA SINDROME DE DOWN: REVISÃO INTEGRATIVA. Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR, Minas Gerais, Vol.13,n.4,pp.111-118 (Dez 2015 – Fev 2016)

WORKSHOP SOBRE ACONSELHAMENTO GENETICO. 1972, Washington, D.C., National Genetics Foundation

BRUNONI D. Aconselhamento genético. Ciênc Saúde Coletiva, São Paulo, 2002; 7:101-7.

MOREIRA, R. M. M.; MELO, D. G. *Percepções dos médicos a respeito do aconselhamento genético do câncer: o exemplo do câncer colorretal*. Rev. Ciênc. Ext. v.8, n.2, p.47, 2012.

UGÁS, A. G. El consejo genético desde una perspectiva bioética personalista. Acta Bioethica 2007; 13 (2)

ACHADO, M. F. A. S. et al. Integralidade, formação de saúde, educação em saúde e as propostas do SUS - uma revisão conceitual. Universidade de Fortaleza- UNIFOR. Ciência & Saúde Coletiva, 12(2):335-342, 2007.

CANDEIAS, Nelly M. F., Conceitos de educação e de promoção em saúde: mudanças individuais e mudanças organizacionais. Ver. Saúde Publica, 31(2):209-13, 1997.

PEDROSA J. SUS terá aconselhamento genético. [22 de janeiro, 2009]. São Paulo: Revista da Folha de São Paulo. Entrevista concedida a Cláudia Collucci. 2009. Disponível em: <http://www.ensp.fiocruz.br/portal-ensp/informe/site/materia/detalhe/14362>.

RAMALHO AS, MAGNA LA. Aconselhamento Genético do paciente com doença falciforme. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2007; 29(3):229-32.

MEIRA, J. G. C; ACOSTA, A. X. Políticas de saúde pública aplicadas à genética médica no BrasilR. Ci. méd. biol., Salvador, v.8, n.2, p. 189-197, mai./ago. 2009

COTTA, C. Aconselhamento Genético é um aliado para evitar o surgimento de doenças. Diário de Pernambuco, 2015.

DESENVOLVIMENTO DE BIOCSENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA O DIAGNÓSTICO DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO

Léony Soares de Oliveira¹; Karen Yasmim Pereira dos Santos Avelino^{1,2}; Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva³; César Augusto Souza de Andrade^{1,2}, Maria Danielly Lima de Oliveira^{1,2}.

¹Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

³Departamento de Imunologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, PE, Brasil.

RESUMO

Introdução: O papilomavírus humano (HPV) é um vírus responsável por infecções nas mucosas e epitélio, apresentando alta incidência. As principais técnicas moleculares utilizadas na pesquisa de HPV compreendem a reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real e ensaios de captura híbrida. Apesar de específicos, estes métodos apresentam altos custos e protocolos complexos. Logo, o desenvolvimento de novos ensaios moleculares é de grande interesse. **Objetivos:** Diante da problemática acerca do HPV, este estudo possui o objetivo de construir um biossensor eletroquímico baseado em polipirrol (PPy), nanopartículas de ouro (AuNs) e cisteamina (Cys) para o diagnóstico de HPV de alto risco oncogênico. **Metodologia:** A montagem do biodispositivo ocorreu sobre um eletrodo de ouro por meio de modificações químicas de superfície. As etapas de construção do sistema sensor foram caracterizadas pelas técnicas de voltametria cíclica (VC) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). **Resultados e Discussão:** Durante o estudo de bioatividade com amostras de plasmídeos recombinantes contendo o gene L1 do HPV16 foi constatado um aumento da resposta impedimétrica e uma diminuição das correntes voltamétricas, indicando o processo de reconhecimento bioespecífico do sistema desenvolvido. Nos ensaios reproduzidos como controle negativo, não houve alterações eletroquímicas significativas. **Conclusão:** Através dos testes biológicos foi verificado que o biossensor é capaz de reconhecer o HPV16 com elevada especificidade, sensibilidade e seletividade. Portanto, o dispositivo eletroquímico proposto pode ser considerado uma ferramenta promissora para o diagnóstico clínico do papilomavírus.

Palavras-chave: Biossensor. Espectroscopia de Impedância. HPV. Voltametria cíclica.

1. INTRODUÇÃO

O HPV é um vírus não envelopado e de cadeia dupla de DNA, responsável por infecções nas mucosas e no epitélio anogenital (HUTTER; DECKER, 2016). Este patógeno apresenta alta incidência e prevalência entre jovens e adultos, sendo o vírus mais comum transmitido sexualmente (CIVIT; FRAGOSO; O’SULLIVAN, 2010). Atualmente, são conhecidos mais de 200 genótipos de HPV subdivididos de acordo com o seu potencial oncogênico em tipos de baixo risco e de alto risco. Sendo os de baixo risco, associados ao aparecimento de verrugas genitais e os de alto risco responsáveis por alterações citogenéticas que levam ao desenvolvimento de cânceres (CIVIT et al., 2012).

Na atualidade, os métodos moleculares de diagnóstico utilizados mais frequentemente na pesquisa do HPV são a reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real e os ensaios de captura híbrida (CIVIT et al., 2012; HUANG et al., 2015). No entanto, essas técnicas possuem obstáculos que limitam seu amplo uso em centros médicos e laboratórios, tais como, sensibilidade limitada, altos custos, protocolos complexos e demorados (CAMPOS-FERREIRA et al., 2013; URREGO et al., 2015). Diante desses fatos, logo se vê que o desenvolvimento de novas técnicas que analisem alvos moleculares em tempo real e que possuam uma elevada performance bioanalítica merecem atenção e destaque.

Em especial, ressalta-se o uso de biossensores para a pesquisa de papiloma vírus em pacientes com indicativo de infecção (FRÍAS et al., 2015). Esses dispositivos analíticos são constituídos por pelo menos uma molécula biológica e apresentam a possibilidade de miniaturização, portabilidade e automação (DRUMMOND; HILL; BARTON, 2003; ROSARIO; MUTHARASAN, 2014). Com o objetivo de aprimorar características-chaves dos biossensores, materiais em escala nanométrica, tais como nanopartículas, nanotubos, nanofibras e nanocompósitos estão sendo utilizados na construção de novos sistemas de detecção (FRÍAS et al., 2015). Entre os nanomateriais, destacam-se as AuNs por possuírem características essenciais e aplicáveis ao desenvolvimento de biossensores, como por exemplo, a habilidade de adsorção molecular, biocompatibilidade, elevada área de superfície, elevada condutividade e não-toxicidade (WANG et al., 2003).

Por estas razões, as AuNs são largamente utilizadas na imobilização de sondas de DNA. Além disso, os polímeros condutores também têm sido empregados na obtenção de plataformas sensoras nanoestruturadas (OLIVEIRA, 2013). Dentre esses polímeros, o PPy é um excelente material a ser usado como substrato para eletrossíntese de AuNs, sendo esta uma nova estratégia para a construção de biossensores funcionais (LI; SHI, 2005).

A VC é uma das principais técnicas utilizadas na análise e desenvolvimento de biossensores, pois, possibilita o acompanhamento de cada etapa de construção do biossensor através da análise das correntes de pico anódicas (ipa) e catódicas (ipc) dos voltamogramas cíclicos (ALEIXO, 2003). A EIE é uma técnica baseada na aplicação de um potencial contínuo de pequena amplitude sobre um sistema de eletrodos. Em adição, é sobreposto um sinal alternado na forma de diferentes valores de frequência. Como resultado, obtêm-se uma corrente alternada de natureza senoidal. Sendo uma técnica extremamente sensível e uma boa aliada para análise de sistemas nanoestruturados (RIBEIRO et al., 2017).

Os biossensores eletroquímicos possuem grande aplicabilidade por serem métodos analíticos simples e de baixo custo com notável sensibilidade, reprodutibilidade e fácil miniaturização. Desta forma, o presente trabalho se mostra extremamente relevante para auxiliar no diagnóstico clínico de HPV, contribuindo para obtenção um melhor prognóstico dos pacientes infectados.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Construção de um biossensor eletroquímico baseado em filmes poliméricos e AuNs, visando o desenvolvimento de um biodispositivo para a identificação de HPV16.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliação físico-química dos parâmetros relacionados às etapas de modificação da superfície do eletrodo metálico.

Caracterização da interação do sistema Biossensor-Sonda frente aos plasmídeos recombinantes contendo o gene L1 do HPV16 e às amostras de plasmídeos não complementares à sonda, atuando como controle negativo, através das técnicas de VC e EIE.

3. METODOLOGIA

3.1 Modificação da superfície

Um eletrodo de ouro foi utilizado como superfície de trabalho para a construção do biossensor. Para a obtenção do sistema biossensível, foram realizadas as seguintes etapas: a) deposição de uma camada polimérica sobre a superfície de ouro; b) adsorção de AuNs; c) quimissorção de Cys; d) imobilização covalente de segmentos de oligonucleotídeos (*primers*); e e) bloqueio de sítios inespecíficos com moléculas de albumina do soro bovino (BSA).

3.2 Ensaios de bioreconhecimento

Para os testes de reconhecimento foram utilizadas amostras de plasmídeos recombinantes contendo o gene L1 do HPV16, em variáveis concentrações (0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 $\text{pg}\cdot\mu\text{L}^{-1}$). As amostras de plasmídeos não complementares a sonda de DNA, foram utilizadas como controle negativo com concentração de 100 $\text{pg}\cdot\mu\text{L}^{-1}$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização eletroquímica de cada etapa de construção do biossensor foi realizada por VC e EIE. Neste estudo obteve-se uma característica eletroquímica padrão para cada etapa e componente adicionado à plataforma sensora. Após o biossensor nanoestruturado ser exposto às amostras de plasmídeos contendo o gene L1 do HPV16, foi verificado um declínio da resposta amperométrica e um aumento da resistência interfacial, refletindo o adequado processo de reconhecimento bioespecífico (FIGURA 1).

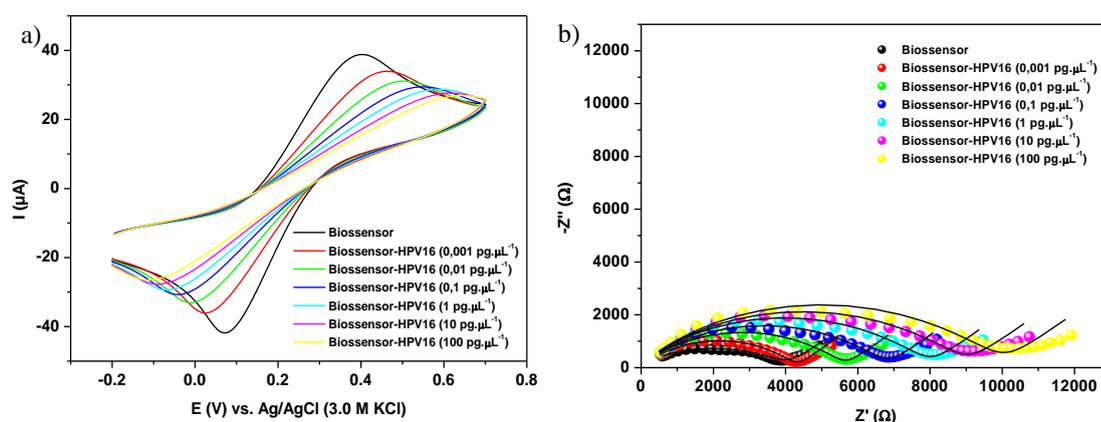


Figura 1. Caracterização voltamétrica (a) e impedimétrica (b) do biossensor exposto às amostras de plasmídeos recombinantes contendo o gene L1 do HPV16 em diferentes concentrações (0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 $\text{pg}\cdot\mu\text{L}^{-1}$).

Para verificar a seletividade do biossensor, foram realizados ensaios com sequências gênicas não complementares à sonda de DNA a uma concentração de $100 \text{ pg}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ (FIGURA 2). Como esperado, não foram verificadas mudanças significativas no sistema eletroquímico referentes à resistência a transferência de carga (R_{CT}), indicando a elevada seletividade do biodispositivo desenvolvido.

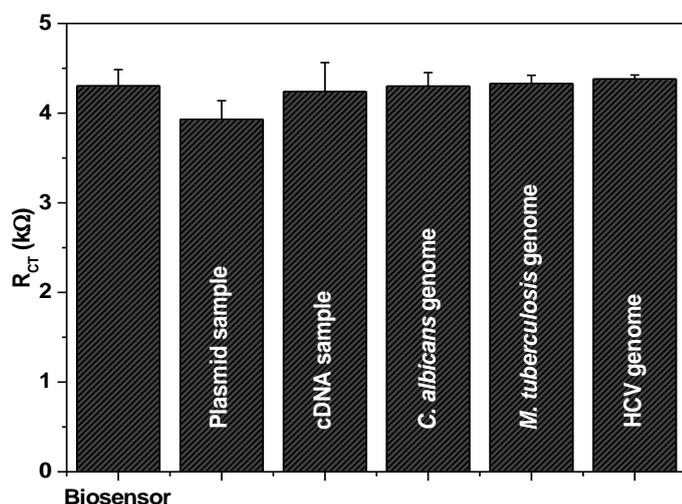


Figura 2. Valores de R_{CT} para ensaios de seletividade com amostra de plasmídeo, cDNA e genoma contendo uma sequência não complementar à sonda de DNA.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que a plataforma sensora mostra-se estável e reprodutível. No estudo do filme polimérico e AuNs, as respostas obtidas foram as já previstas na literatura, possibilitando a minimização do problema de seletividade nas baixas concentrações do analito e o aumento da reprodutibilidade de resposta eletroquímica. Igualmente, as AuNs se mostraram eficientes, juntamente com as moléculas de Cys, para a imobilização de segmentos de DNA (*primers*), preservando suas características iniciais de biorreconhecimento. Frente ao ensaio de bioatividade com o plasmídeo recombinante contendo o gene L1 do HPV16, o biossensor proposto mostrou-se seletivo e sensível às variáveis concentrações do analito. Em adição, todos os parâmetros da construção foram acompanhados pela técnica de VC e EIE com eficiência e precisão.

6. REFERÊNCIAS

- ALEIXO, L. M. Voltametria: conceitos e técnicas. **Universidade Estadual de Campinas, São Paulo**, 2003.
- CAMPOS-FERREIRA, Danielly S. et al. Electrochemical DNA biosensor for human papillomavirus 16 detection in real samples. **Analytica chimica acta**, v. 804, p. 258-263, 2013.
- CIVIT, L. et al. Electrochemical genosensor array for the simultaneous detection of multiple high-risk human papillomavirus sequences in clinical samples. **Analytica chimica acta**, v. 715, p. 93-98, 2012.

CIVIT, L.; FRAGOSO, A.; O'SULLIVAN, C. K. Electrochemical biosensor for the multiplexed detection of human papillomavirus genes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 4, p. 1684-1687, 2010.

DRUMMOND, T. Gregory; HILL, Michael G.; BARTON, Jacqueline K. Electrochemical DNA sensors. **Nature biotechnology**, v. 21, n. 10, p. 1192, 2003.

FRÍAS, I. A. M. et al. Trends in biosensors for HPV: identification and diagnosis. **Journal of Sensors**, v. 2015, 2015.

HUTTER, J. N.; DECKER, C. F. Human papillomavirus infection. **Disease-a-Month**, v. 62, n. 8, p. 294-300, 2016.

HUANG, S. H. et al. Refining American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control TNM stage and prognostic groups for human papillomavirus-related oropharyngeal carcinomas. **J Clin Oncol**, v. 33, n. 8, p. 836-845, 2015.

LI, Y.; SHI, G. Electrochemical growth of two-dimensional gold nanostructures on a thin polypyrrole film modified ITO electrode. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 109, n. 50, p. 23787-23793, 2005.

OLIVEIRA, J. E. et al. Uso de polímeros condutores em sensores. Parte 3: Biossensores. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 8, p. 1-11, 2013.

RIBEIRO, J. F. F. et al. Plataforma biossensora eletroquímica baseada em eletrodo de carbono vítreo modificado por pontos quânticos. **Blucher Biophysics Proceedings**, v. 1, n. 1, p. 11-14, 2017.

ROSARIO, R.; MUTHARASAN, R. Nucleic acid electrochemical and electromechanical biosensors: a review of techniques and developments. **Reviews in analytical chemistry**, v. 33, n. 4, p. 213-230, 2014.

URREGO, L. F. et al. Biomicrosystem design and fabrication for the human papilloma virus 16 detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 207, p. 97-104, 2015.

WANG, N. et al. Functionalized gold nanoparticles/reduced graphene oxide nanocomposites for ultrasensitive electrochemical sensing of mercury ions based on thymine–mercury–thymine structure. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 79, p. 320-326, 2016.

WANG, S. F.; TAN, Y. M. A novel amperometric immunosensor based on Fe₃O₄ magnetic nanoparticles/chitosan composite film for determination of ferritin. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 387, n. 2, p. 703-708, 2007.

ESQUIZOCITOSE EM CÃES E GATOS: REVISÃO DE LITERATURA

Vanessa Maranhão Soares¹, Sinara Fernanda Souza da Silva¹, Lucilo Bioni da Fonsêca Filho², Alane Barbara Patriota Nogueira¹, Elizabeth Pereira Souza¹, Priscilla Virgínio de Albuquerque³, Silvia Fernanda de Alcantara³, Júlio César dos Santos Nascimento⁴.

¹ Medicina Veterinária da Universidade Maurício de Nassau, Recife-PE, Brasil, ² Universidade Federal Rural de Pernambuco, programa de Ciência Animal Tropical, ³ Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE, Recife-PE, Brasil, ⁴ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

Resumo: Introdução: A esquizocitose é definida como o aumento da concentração de esquizócitos na corrente sanguínea. Os esquizócitos são eritrócitos que sofreram uma alteração na sua morfologia, tornando-se células triangulares ou espiculadas. Essas células são formadas devido à danos físicos como na fragmentação mecânica, fluxo turbulento, lesões oxidativas ou doenças hereditárias. Uma grande variedade de patologias, com diferentes mecanismos, resultam na fragmentação das hemácias sendo importante o conhecimento sobre a sua fisiopatogenia para compreender as alterações encontradas no organismo do animal. Objetivos: O presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica acerca da fisiopatogenia da esquizocitose em cães e gatos. Metodologia: Foi realizada uma pesquisa bibliográfica em livros veterinários e no banco de dados da LILACS, PubMed e Google acadêmico. Revisão de Literatura: Os esquizócitos são formados decorrente de trauma direto às células, lesão oxidativa e doenças hereditárias. O trauma pode ser decorrente de fluxo turbulento, fragmentação mecânica por microtrombos, fagocitose e hipertermia. Doenças hereditárias, distúrbios na eritropoiese e alterações medulares resultam na produção de eritrócitos defeituosos, com alterações morfológicas e fragilidade na membrana celular, predispondo a produção de esquizócitos. Conclusão: O conhecimento sobre a fisiopatogenia da esquizocitose e as patologias que a acometem é de grande importância para o estabelecimento de um correto diagnóstico.

Palavras-chave: esquizócitos, fragmentação de hemácias, trauma.

INTRODUÇÃO

A esquizocitose caracteriza-se pelo aumento dos números de esquizócitos na corrente sanguínea, sendo também conhecida como esquistocitose. Os esquizócitos ou esquistócitos são fragmentos de glóbulos vermelhos, geralmente resultantes de danos físicos diretos nas hemácias. Estas, podem ser lesadas principalmente devido a anormalidades vasculares ou fluxo sanguíneo turbulento. Em cães a esquizocitose foi relatada em vários distúrbios como fragmentação microangiopática, coagulação intravascular disseminada (CID), glomerulonefrite (GN), hemangiossarcoma, mielofibrose, diseritropoiese e intoxicação por doxorubicina. Em gatos, a esquizocitose foi encontrada junto a doença hepática (WEISS; WARDROP, 2010). Também ocorre a elevação de esquistócitos em anemia grave por deficiência de ferro, insuficiência cardíaca, síndrome cava da dirofilariose, endocardite, esplenectomia, síndrome hemolítica urêmica e distúrbio hemofagocitário histiocítico (HARVEY, 2001; STOCKHAM; SCOTT, 2016). Diante do exposto, percebe-se que uma grande variedade de doenças, com mecanismos variados, ocasiona a esquistocitose. O conhecimento sobre a fisiopatogenia dessa alteração celular é essencial para compreender o que ocorre no organismo do animal.

OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre a fisiopatogenia da esquizocitose em cães e gatos.

METODOLOGIA

Este trabalho é uma revisão bibliográfica, onde foi utilizado artigos pertencentes aos bancos de dados da LILACS, PubMed e Google Acadêmico. Os descritores utilizados incluíram “Schistocytes”, “Schizocytes” e “ Erythrocyte fragmentation”. Também foram utilizados livros veterinários específicos em hematologia e patologia clínica.

REVISÃO

Os esquizócitos são fragmentos das células vermelhas do sangue cuja patogenia está associada a trauma, lesão oxidativa e vesiculação (STOCKHAM; SCOTT, 2016). A forma dos fragmentos pode variar de ponta ou triangular a espiculada (WEISS; WARDROP, 2010).

A quebra de eritrócitos, denominada hemólise, pode ocorrer quando são forçados a fluir através de canais vasculares alterados ou expostos ao fluxo sanguíneo turbulento (HARVEY, 2001). A fragmentação mecânica ocorre quando as células passam através da malha de fibrina de um microtrombo que corta os glóbulos vermelhos em dois ou mais pedaços irregulares, à medida que as células atravessam a vasculatura (HARVEY, 2001; REAGAN et al., 2008). Diversas patologias ocasionam danos direto ao endotélio vascular gerando a agregação plaquetária e formação da malha de fibrina com a consequente fragmentação das hemácias. Dentre elas se incluem a síndrome hemolítica urêmica, púrpura trombocitopênica, hipertensão maligna, endotoxemia, deposição de complexo antígeno-anticorpo e agentes infecciosos (REBAR et al., 1981; ER-RAHALI, 2014). Além da lesão aos vasos, diversos agentes infecciosos podem causar danos diretos às hemácias, ocasionando anemia hemolítica (ER-RAHALI, 2014). A quebra de hemácias por deposição extensa de fibrina na microvasculatura também está associada a coagulação intravascular disseminada ou inflamação extensiva de tecidos altamente vasculares (isto é, baço, fígado, parênquima pulmonar, medula óssea e córtex renal) (COWELL; VALENCIANO, 2014). Doenças comuns associadas com a CID incluem, endotoxemia (sepsis), trauma grave, choque, neoplasia, mordidas venenosas e vasculite (ROSENFELD; DIAL, 2010). Os esquizócitos não são tipicamente vistos em gatos com CID, possivelmente devido aos eritrócitos dessas espécies apresentarem menor tamanho e serem menos propensos a divisão por fios de fibrina na circulação (HARVEY, 2001).

A hemólise quando resultante de turbulência sanguínea excessiva ou por fluxo sanguíneo alterado associa-se a doenças cardíacas como a estenose valvular cardíaca e síndrome caval da dirofilariose. As alterações cardíacas, presença de próteses valvulares ou gordura depositada nos vasos podem gerar um fluxo sanguíneo turbulento que causará a fragmentação (REBAR et al., 1981; ER-RAHALI, 2014). Em cirurgias de grandes vasos ou cardíacas também pode ocorrer a elevação dessas células (ER-RAHALI, 2014). Ambos os mecanismos descritos sobre o fluxo turbulento ou formação de malha de fibrina podem ocorrer em grandes tumores altamente vasculares, especialmente em hemangiossarcomas (COWELL; VALENCIANO, 2014).

O rompimento de hemácias também pode resultar de anormalidades intrínsecas dos próprios glóbulos vermelhos, como ocorre com a lesão oxidativa de hemácias por deficiência de ferro moderada a grave (COWELL; VALENCIANO, 2014). A hemólise gerada por deficiência em ferro resulta em lesões de membrana ou aumento da suscetibilidade ao trauma intravascular. Os eritrócitos deficientes em ferro desenvolvem inicialmente um vacúolo. Estas lesões subsequentemente se

ampliam e abrem para formar células com uma ou mais espículas que se fragmentam formando os esquizócitos (THRALL et al., 2012). A deficiência de ferro é mais comum em animais jovens devido ao ferro limitado em suas dietas se ainda estiverem amamentando e sua medula óssea ter uma quantidade menor de ferro armazenado. Os animais adultos geralmente desenvolvem deficiência de ferro por sangramento prolongado (ROSENFELD; DIAL, 2010). Outra explicação para a fragmentação na anemia ferropriva seria devido a diseritropoiese. A diseritropoiese com a formação de esquizócitos também é ocasionada pela utilização de quimioterápicos em tumores malignos (BESSMAN, 1988).

Distúrbios na eritropoiese podem ser ocasionados por inúmeras patologias. Uma eritropoiese ineficaz resulta em fragilização das hemácias com consequente fragmentação (ER-RAHALI, 2014). As alterações na medula que ocorrem na eritroleucemia e mielodisplasia também causam a fragmentação eritrocitária (BESSMAN, 1988).

Em esplenectomias pode ocorrer o aumento de esquizócitos devido a deficiência de piruvato quinase. O baço também é um órgão importante para a remoção de hemácias defeituosas, velhas ou rígidas, que possuem predisposição para a formação de esquizócitos. Assim, após a esplenectomia, o baço não removerá essas células, podendo resultar numa elevação na concentração de esquizócitos (ER-RAHALI, 2014). Uma outra causa de esquizocitose seria a fagocitose de porções da célula devido a danos celulares ou envelhecimento (HARVEY, 2001).

Doenças que causam alterações na membrana eritrócitaria podem resultar em esquistocitose, sendo estas hereditárias ou adquiridas. A anemia megalobástica, talassemia, mielofibrose primária e mutação da proteína espectrina ocasionam alterações morfológicas nas hemácias, resultando em esquizócitos (BESSMAN, 1988; ER-RAHALI, 2014)

As elevadas temperaturas decorrente de queimaduras extensas ocasionam ataque térmico à membrana eritrocitária com alterações em sua morfologia. A maioria das células formadas resultantes da hipertermia são os esferócitos porém também pode haver a presença dos esquizócitos (ER-RAHALI, 2014).

CONCLUSÃO

A esquizocitose é ocasionada, principalmente, por traumas às células. As patologias que ocorrem na esquistocitose assim como a patogenia associada a formação dessas células é variada e pode incluir fragmentação mecânica, fluxo turbulento, lesões oxidativas e alterações morfológicas na membrana celular. Assim, a compreensão de como ocorre esse trauma celular e quais doenças estão relacionadas à esquizocitose é essencial para compreensão das alterações encontradas no organismo do animal e estabelecimento de um correto diagnóstico.

REFERÊNCIAS

BESSMAN, J. D. Red blood cell fragmentation: Improved detection and identification causes. **A.J.C.P.**, v.90, n.3, p.268-273, 1988.

COWELL, R. L.; VALENCIANO, A. C. **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat.** 4.ed. China: Elsevier, 2014.

ER-RAHALI, Y. **Schizocytes: Aspects cytologiques et interets**. 2014. 121 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculte de Medicine Et de Pharmacie, Universite Mohammed, Rabat, 2014

HARVEY, J. W. **Atlas of veterinary hematology: Blood and bone marrow of domestic animals**. 1.ed. China: Saunders. 2001.

REAGAN, W. J.; ROVIRA, A. R. I.; DENICOLA, D. B. **Veterinary hematology: Atlas of domestic and non-domestic species**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2008.

REBAR, A. H. et al. Red cell fragmentation in the dog: A editorial review. **Vet. Pathol.** v.18, p.415-426, 1981.

ROSENFELD, A. J.; DIAL, S. M. **Clinical pathology for the veterinary team**.1.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos da patologia clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

THRALL, M. A. et al. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2012.

VOIGT, G. L.; SWIST, S. L. **Hematology techniques & concepts for veterinary technicians**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2011.

WEISS, D. J.; KRISTENSEN, A.; PAPENFUSS, N. Quantitative evaluation of irregularly spiculated red blood cells in the dog. **Veterinary clinical pathology**, v.22,n.4, p.117-121, 1993

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.

EVOLUÇÃO PONDERAL DE RATOS DE AMBOS OS SEXOS SUBMETIDOS AO DESMAME PRECOCE

Renata Alves de Sousa¹, Gabriel Araújo Tavares³, Larissa Cavalcanti do Amaral Almeida⁴, Victor Vasconcelos de Farias¹, Fernanda Cicalese Ourem Costa², Maria Heloisa Lira Rodrigues dos Santos², Julliet Araújo de Souza², Sandra Lopes de Souza^{3,4}.

¹Curso de Graduação Bacharelado em Ciências Biológicas – Universidade Federal de Pernambuco, ²Departamento de Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco, ³Programa de Pós-graduação em Nutrição – Universidade Federal de Pernambuco, ⁴Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento - Universidade Federal de Pernambuco

RESUMO

Introdução: O desmame precoce apresenta alta prevalência no Brasil e está associado ao maior risco de doenças crônicas na vida adulta. Outro fator associado a estes problemas é a aceleração de crescimento como resposta a algum período de privação no início da vida. **Objetivo:** avaliar o ganho de peso de ratos desmamados precocemente e a evolução de peso corporal dos mesmos até a idade de adolescência. **Metodologia:** Ratos *Wistar* foram submetidos ao desmame precoce (DP) (15 dias de vida) ou desmame natural (DN) (30 dias de vida). O percentual de ganho de peso foi avaliado entre as idades 15 e 21, 21 e 30, e 15 e 30. Além disso foi avaliado o peso corporal nas idades 15, 21, 30, 35 e 40 dias. **Resultados:** Ratos DP de ambos os sexos apresentaram redução do percentual de ganho de peso da idade 15 para a idade 21, com posterior aumento deste percentual da idade 21 para 30, sem alterações quando avaliado entre 15 e 30 dias de vida. Machos DP apresentaram maior peso corporal aos 40 dias e fêmeas DP maior peso aos 35 e 40 dias. **Conclusão:** O desmame precoce promoveu aceleração de ganho de peso no período pós-natal e elevação de peso corporal em ratos adolescentes de ambos os sexos.

Palavras-chave: Desmame Precoce; Comportamento Alimentar; Saúde.

INTRODUÇÃO

Um ambiente adequado no início da vida é de fundamental importância para o crescimento e desenvolvimento adequado dos indivíduos (DOBBING, 1990; MORGANE et al., 1993). Este período inicial da vida pode ser dividido em três fases de igual importância em mamíferos altriciais, sendo elas o período pré-natal, que compreende as fases embrionária e fetal do desenvolvimento; o período pós-natal, que compreende as fases de amamentação e infância; e o período perinatal, que compreende as fases de gestação e lactação (MORGANE et al., 1993).

Diversos estudos demonstram que insultos ambientais durante este período estão associados a diminuição de qualidade de vida a longo prazo (OROZCO-SÓLIS et al., 2009 LI; SLOBODA; VICKERS, 2011; DE SOUZA et al., 2018). Animais que sofreram insultos nutricionais no início da vida, seja por excesso ou por falta, assim como animais que sofreram privação do contato materno, apresentam alterações de peso corporal na vida adulta (RYU et al., 2008, 2009; MANUEL-APOLINAR et al., 2014). Em animais submetidos ao desmame precoce, já se sabe que, em machos, o peso corporal não é alterado à longo prazo, porém não se sabe se durante a fase pós-natal o desmame precoce promove aceleração do crescimento (OLIVEIRA et al., 2011). Além disso, nenhum dado na literatura aborda o peso corporal de fêmeas submetidas ao desmame precoce.

Assim, objetivamos avaliar o ganho de peso e o peso corporal de ratos machos e fêmeas desde a fase pós-natal até a adolescência.

METODOLOGIA

Animais experimentais

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar* provenientes do Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE. Inicialmente, ratas (200-250g de peso corporal, n=10) foram acasaladas na proporção de duas fêmeas para um macho. A prenhez foi diagnosticada pela presença de espermatozoide no esfregaço vaginal e confirmada pelo ganho de peso corporal. A partir do diagnóstico, as ratas prenhas foram transferidas para gaiolas individuais, e durante a gestação e lactação receberam dieta padrão de biotério (Presence®). Após o nascimento dos filhotes, foi realizada a sexagem para a formação das ninhadas com 8 filhotes machos e fêmeas, igualmente proporcional. Durante todo o experimento, os animais foram mantidos em condições padrão de biotério (temperatura de 22 ± 1 °C, sob ciclo claro/escuro invertido de 12 horas, luz acesa às 18h), com livre acesso a ração e água. Todos os procedimentos foram avaliados e aprovados de acordo com a Comissão de Ética em Utilização de Animais da UFPE, de acordo com número de processo 23076.043927/2014-60.

Desmame precoce

O dia do nascimento dos filhotes foi considerado dia zero. No primeiro dia pós-natal, foram mantidos 4 filhotes machos e 4 fêmeas em cada ninhada. Para obtenção dos grupos experimentais, os filhotes de diferentes ninhadas foram desmamados em períodos distintos. O desmame precoce em ratos é considerado quando há interrupção do aleitamento por volta do 15º dia de idade, e o natural, como ocorre na natureza, aos 30 dias de vida (NOVÁKOVÁ et al., 1962; KIKUSUI; MORI, 2009). Após o desmame precoce, os filhotes receberam dieta comercial de biotério triturada até o dia 30 de vida. A partir do 30º dia de vida, todos os grupos foram submetidos a dieta comercial de biotério.

Grupos experimentais

Os grupos experimentais foram formados de acordo com o dia do desmame, 15 ou 30 dias pós-natal:

Grupo Controle, macho (CM) ou fêmea (CF) - desmamado no período natural para a espécie, 30º dia pós-natal;

Grupo desmamado precocemente, macho (DM) ou fêmea (DF) – animais desmamados no 15º dia pós-natal.

Evolução ponderal e percentual de ganho de peso

O peso corporal dos animais (gramas) foi mensurado nas idades 15, 21, 30, 35 e 40 dias de vida. Até o 30º dia de vida, o peso foi obtido a partir da média de peso de todos os animais de cada ninhada, separados por sexo. A partir do 35º dia, foi obtido o peso individual dos ratos. O percentual de ganho de peso foi mensurado a partir da porcentagem de peso ganho do 15º ao 21º dia de vida, do 21º ao 30º dia de vida e do 15º ao 30º dia de vida (OLIVEIRA et al., 2011).

Aspectos éticos

Os procedimentos experimentais com os animais foram de acordo com os “Princípios éticos na experimentação animal”, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de experimentação animal (CONCEA), obedecendo às normas de manuseio e cuidado com os animais. Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE, sob número de processo 23076.043927/2014-60.

Análises estatísticas

Foi utilizado ANOVA *two-way*, com pós-teste de *tukey*. O nível de significância foi aceito quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism v6.

RESULTADOS

Não foram observadas diferenças de peso corporal entre os animais dos diferentes grupos experimentais nas idades 15, 21 e 30 dias de vida. Porém, aos 35 dias de vida, o grupo desmame fêmea (DF) apresentou maior peso corporal em relação ao grupo controle fêmea (CF) (CF=108,7g \pm 4,3, n=10; DF= 116,9g \pm 7,7, n=12, $p < 0,05$). Nos grupos controle e desmame, as fêmeas apresentaram menor peso aos 35 dias de vida quando comparadas aos machos (CM= 124,1g \pm 9,2, n=11; CF= 108,7g \pm 4,3, n=10, $p < 0,001$; DM= 126,47g \pm 7,0, n=9; DF= 116,9g \pm 7,7, n=12, $p < 0,005$). Aos 40 dias de vida, o grupo desmame, macho e fêmeas, apresentou maior peso corporal quando comparados ao grupo controle dos respectivos sexos (CM= 151,3g \pm 10,9, n=11; DM= 161,6 \pm 13,2, n=9, $p < 0,005$; CF= 128,0g \pm 5,2, n=10; DF= 138,7g \pm 10,3, n=12, $p < 0,005$). Nos grupos C e D, aos 40 dias de vida, houve redução do peso das fêmeas comparado aos machos (CM= 151,3g \pm 10,9, n=11; CF= 128,0g \pm , n=10, $p < 0,001$; DM= 161,58g \pm 13,20, n=9; DF, 138,7g \pm 10,3, n=12, $p < 0,001$) (Figura 6A).

Quanto ao percentual de ganho de peso, o grupo desmame precoce apresentou menor ganho de peso dos 15 aos 21 dias de idade em machos e fêmeas (CM= 43,8% \pm 9, n=12; DM= 26,8% \pm 9,3, n=7, $p < 0,05$, Figura 6B; CF= 47,0 % \pm 6,5, n=4; DF= 30,8 % \pm 11,11, n=13, $p < 0,05$, Figura 6C). Esta análise quando realizada entre os dias 21 e 30 revelou maior ganho de peso do grupo desmame comparado ao grupo controle em machos e fêmeas (CM= 85,7% \pm 8,8, n=11; DM= 118,3% \pm 9,4, n=5, $p < 0,05$, Figura 6B; CF= 164,7% \pm 29,4, n=10; DF= 171,4% \pm 19,7, n=9, $p < 0,05$, Figura 6C). O percentual de ganho de peso não foi diferente entre os grupos no período de 15 aos 30 dias de idade (Figura 6B e C).

DISCUSSÃO

Na avaliação de evolução de peso corporal, foi observado que o desmame precoce promoveu redução de ganho de peso entre 15 e 21 dias, seguido de aumento de peso corporal na adolescência de fêmeas (35e 40 dias) ou machos (40 dias). No entanto, não foi observado efeito na análise do peso absoluto antes dos 30 dias de vida. Em estudo com método de desmame precoce igual ao do presente trabalho, foi observada redução de peso corporal entre os 16 e 18 dias de vida sem mais efeitos a partir desta idade (OLIVEIRA et al., 2011). A redução no ganho de peso, e não o peso absoluto, está de acordo com estes resultados (OLIVEIRA et al., 2011). Esta redução está relacionada a transição abrupta dos animais desmamados precocemente do leite materno para o alimento sólido, que tem composição nutricional diferente do leite materno (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993; AZARA et al., 2008). A energia fornecida pelo leite materno é principalmente originada dos lipídeos (69,8%), seguido das proteínas (23,4%) e dos carboidratos (6,8%) (AZARA et al., 2008). Por outro lado, a dieta padrão de biotério tem os carboidratos como principal fonte de

calorias (64%), seguido de proteínas (19,3%) e lipídeos (16,7%) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). Em roedores, a caseína do leite materno tem aumento progressivo de concentração até os 20 dias de lactação e a transferrina apresenta pico na concentração do 10º ao 20º dia de lactação (NICHOLAS; HARTMANN, 1991). Para o rato que é desmamado precocemente, há perda abrupta desta evolução na concentração de nutrientes no leite, o que provoca a redução de ganho de peso nos primeiros dias de desmame.

Após período inicial de redução de peso, o desmame precoce promoveu maior ganho de peso, indicando recuperação ponderal denominada *catch-up* de crescimento (WI; BOERSMA, 2002). Essa aceleração do crescimento em decorrência de alguma privação perinatal ocorre em um curto período de tempo, o que está amplamente associado na literatura a modificações do metabolismo energético à longo prazo, aumento do risco de mortalidade e de desenvolvimento de doenças crônicas, tanto em modelos animais como em humanos (SHAHKHALILI et al., 2010; COUPÉ et al., 2012; SINGHAL, 2017). Esta recuperação do ganho de peso mascarou o percentual ganho de peso quando avaliado dos 15 aos 30 dias de vida, em que não se observa diferenças entre desmame precoce e desmame natural e pode ser a causa da elevação do peso corporal em fêmeas aos 35 e 40 dias de idade e machos aos 40 dias de idade.

CONCLUSÃO

O desmame precoce promoveu aceleração de ganho de peso no período pós-natal e elevação de peso corporal em ratos adolescentes de ambos os sexos.

REFERÊNCIAS

AZARA, C. R. P. et al. Ethanol intake during lactation alters milk nutrient composition and growth and mineral status of rat pups. **Biological research**, v. 41, p. 317–330, 2008.

COUPÉ, B. et al. Postnatal growth after intrauterine growth restriction alters central leptin signal and energy homeostasis. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, 2012.

DE SOUZA, J. A. et al. Pre-weaning maternal separation increases eating later in life in male and female offspring, but increases brainstem dopamine receptor 1a and 2a only in males. **Appetite**, v. 123, p. 114–119, 2018.

KIKUSUI, T.; MORI, Y. **Behavioural and neurochemical consequences of early weaning in rodents**. Journal of Neuroendocrinology. **Anais...**2009

LI, M.; SLOBODA, D. M.; VICKERS, M. H. Maternal obesity and developmental programming of metabolic disorders in offspring: evidence from animal models. **Experimental diabetes research**, v. 2011, p. 592408, jan. 2011.

MANUEL-APOLINAR, L. et al. Role of prenatal undernutrition in the expression of serotonin, dopamine and leptin receptors in adult mice: Implications of food intake. **Molecular Medicine Reports**, v. 9, n. 2, p. 407–412, 2014.

MORGANE, P. J. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 17, n. 1, p. 91–128, 1993.

NICHOLAS, K. R.; HARTMANN, P. E. Milk secretion in the rat: Progressive changes in milk composition during lactation and weaning and the effect of diet. **Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology**, v. 98, n. 3–4, p. 535–542, 1991.

NOVÁKOVÁ, V. et al. Effect Of Early And Late Weaning on Learning in Adult Rats. **Nature**, v. 193, p. 280, 1962.

OLIVEIRA, S. et al. Effects of early weaning on the circadian rhythm and behavioral satiety sequence in rats. **Behavioural Processes**, v. 86, n. 1, p. 119–124, 2011.

OROZCO-SÓLIS, R. et al. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. **Physiology & behavior**, v. 96, n. 3, p. 481–92, mar. 2009.

REEVES; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 1993.

RYU, V. et al. Sustained hyperphagia in adolescent rats that experienced neonatal maternal separation. **International Journal of Obesity**, v. 32, n. 9, p. 1355–1362, 2008.

RYU, V. et al. Post-weaning isolation promotes food intake and body weight gain in rats that experienced neonatal maternal separation. **Brain Research**, v. 1295, p. 127–134, 2009.

SHAHKHALILI, Y. et al. Comparison of two models of intrauterine growth restriction for early catch-up growth and later development of glucose intolerance and obesity in rats. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 298, n. 1, p. R141–R146, 2010.

SINGHAL, A. Long-Term Adverse Effects of Early Growth Acceleration or Catch-Up Growth. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 70, n. 3, p. 236–240, 2017.

WI, J.-M.; BOERSMA, B. Catch-up growth: definition, mechanisms, and models. **Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM**, v. 15 Suppl 5, p. 1229–1241, 2002.

INTERAÇÕES DE VENENO OFÍDICO COM A CASCATA DE COAGULAÇÃO: ENTENDENDO AS TOXINAS PROCOAGULANTES E FIBRINOGENOLÍTICAS

Joeliton dos Santos Cavalcante¹, Evaldo Joaquim de Farias Filho¹, Anny Catharine de Lima¹, Maria Rejane de Sousa Silvino¹, Janicleide dos Santos Cavalcante¹, Mikaelly Batista da Silva¹, Silvana de Brito Camelo¹, Cayo Antônio Soares de Almeida²

¹ Universidade Estadual da Paraíba, UEPB-PB, ² Universidade Federal do ABC, UFABC-SP

RESUMO

Introdução: Venenos de serpentes são uma mistura complexa de diversos componentes como proteínas, peptídeos e aminoácidos que durante o envenenamento atuam no sistema de coagulação sanguínea, resultando conseqüentemente em disfunções hemostáticas. Geralmente, os venenos de serpentes causam um quadro de coagulação intravascular disseminada que culmina numa coagulopatia de consumo, tornando o sangue incoagulável. **Objetivo:** Este estudo se propôs analisar estudos publicados em periódicos científicos acerca da ação de toxinas presentes nos venenos de serpentes sobre fatores da cascata de coagulação sanguínea, a fim de esclarecer suas interações e a gênese das disfunções hemostáticas encontradas em acidentes ofídicos. **Metodologia:** Trata-se de um estudo de abordagem qualitativa que adota o método de revisão integrativa. **Revisão:** As toxinas procoagulantes caracterizadas consistem em proteases que ativam fatores da cascata de coagulação, resultando conseqüentemente numa diminuição do tempo necessário para formação de coágulos. As proteases são capazes de ativar o FX e são metaloproteases ou serinaproteases. Adicionalmente, são encontrados nos venenos de serpentes ativadores de protrombina, metaloproteases que realizam a conversão da protrombina em meizotrombina, ou em trombina madura. Algumas toxinas ainda clivam a extremidade N- terminal das cadeias A α ou B β ou ambas da molécula de fibrinogênio. **Conclusão:** Com base nessas implicações, reforçamos que os distúrbios da hemostasia apresentados por pacientes vítimas de ofidismo, decorrem da ação de toxinas que apresentam múltiplos alvos sobre diferentes fatores da cascata de coagulação sanguínea.

INTRODUÇÃO

Os venenos ofídicos constituem uma mistura complexa de diversos componentes como proteínas, peptídeos e aminoácidos, que atuam em perfeita sintonia, tanto na digestão da presa, como na proteção da serpente contra os seus predadores naturais (KANG et al., 2011)

Estas moléculas constituintes do veneno, atuam de maneira isolada ou sinérgica, induzem, em caso de acidentes ofídicos ou em modelos experimentais, a uma série de alterações fisiopatológicas que vão desde alterações locais, até efeitos sistêmicos complexos como alterações nos sistemas hemostático, ocasionando incoagulabilidade sanguínea, e distúrbios hemorrágicos (MAGALHÃES et al., 2017).

A perda da estabilidade hemostática durante o envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops*, é a origem dos distúrbios hemorrágicos que ocorrem nas vítimas. A ação de toxinas do

veneno capazes de ativar fibrinogênio, protrombina e fatores de coagulação, ocasiona consumo de fibrinogênio e formação de fibrina intravascular, além de efeito anticoagulante (KINI; KOH, 2016).

Uma grande variedade de toxinas ofídicas é capaz de atuar sobre a hemostasia. Sabe-se que os venenos de serpentes são compostos por uma complexa mistura de componentes que induzem uma série de manifestações clínicas nos envenenamentos humanos, onde venenos das serpentes do gênero *Bothrops* por exemplo, são caracterizados por deflagrarem principalmente três atividades fisiopatológicas: inflamatória aguda, influência sobre coagulação e plaquetas, além de grande atividade hemorrágica (FRANÇA; MÁLAQUE, 2009). Os componentes dos venenos nas atividades sobre o sistema hemostático podem ser classificados em: coagulantes ou anticoagulantes quando atuam na coagulação, agregantes ou antiagregantes plaquetários que agem sobre as plaquetas e fatores hemorrágicos, quando causam lesão vascular (SANO- MARTINS; SANTORO, 2009).

A associação da atividade coagulante do veneno com sua atividade sobre as plaquetas e vasos sanguíneos torna o quadro clínico de acidente ofídico preocupante, uma vez que pode levar a complicações. Em geral, os venenos de serpentes do gênero *Bothrops* clivam fibrinogênio, ativam protrombina, fator X e plaquetas (SANO-MARTINS; SANTORO, 2009).

OBJETIVO

Analisar estudos publicados em periódicos científicos acerca da ação de toxinas do veneno de serpentes durante o envenenamento humano, a fim de esclarecer as interações de algumas toxinas de venenos de serpentes com a cascata de coagulação sanguínea.

METODOLOGIA

Para a realização dessa revisão sistemática foi realizada uma busca de estudos sobre as atividades de venenos sobre a coagulação do sangue nas seguintes bases de dados: MDPI, Medline (via Pubmed), Scopus, Web of Science e Scielo. A busca foi realizada entre Maio e Junho de 2018 utilizando os seguintes descritores: “venenos de serpentes”, “hemostasia”, “Coagulação”.

REVISÃO

Dentre a composição venômica, algumas toxinas apresentam atividade procoagulante, por atuarem sobre fatores de coagulação (SAJEVIC et al., 2011). Os fatores de coagulação sanguínea circulam como zimogênicos são de natureza proteica plasmáticos e constituem a linha de defesa secundária após injúria vascular e exercem seu papel na hemostasia secundária ou coagulação sanguínea, sendo ativados através de clivagem proteolítica limitada durante a ruptura do vaso sanguíneo em forma de cascata, levando à formação de coágulo de fibrina que interrompe o vazamento de sangue (HALL, 2016).

Todas as toxinas procoagulantes de venenos de serpentes caracterizados até então são proteases que ativam um zimogênio de fatores de coagulação específicos na cascata de coagulação e aceleram a formação de coágulos. Diferente das proteases de serina, que ativam vários zimogênios na cascata de coagulação, as SVMPS ativam apenas dois fatores chave de coagulação, fator X (FX) e protrombina para exibir seus efeitos pró-coagulantes (MACKESSY, 2016).

Os venenos de serpentes das famílias *Viperidae*, *Crotalidae* e *Elapidae* apresentam em sua composição uma grande variedade de proteases capazes de ativar o FX. São metaloproteases ou serina proteases. Em geral, as metaloproteases ativadores de FX são encontrados nos venenos de

Viperidae e *Crotalidae*, enquanto os ativadores de FX da serina protease são encontrados em venenos de *Elapidae* (JACKSON et al., 2016).

Todas as metaloproteases ativadoras de FX têm duas subunidades mantidas juntas por ligação dissulfureto entre subunidades; a subunidade maior é uma metaloprotease P-III, enquanto que a subunidade menor é uma snaclec (proteínas ligadas à lectina do tipo C da serpente) com duas cadeias ligadas covalentemente por uma ligação dissulfureto inter-cadeias. Exemplificando, os ativadores de *Bothrops atrox*, produzem duas outras clivagens: uma perto da extremidade N-terminal da cadeia pesada de FX, gerando FX μ e uma segunda localizada em uma extremidade da cadeia pesada de FX α , gerando FX ν (KINI; KOH, 2016).

Um grande número de espécies de serpentes contém ativadores de protrombina em seus venenos, como por exemplo a Berythactivase uma metaloprotease ativadora de protrombina desprovida de atividade hemorrágica que possui baixa atividade fibrinogenolítica (SILVA et al., 2003). A partir das propriedades estruturais, características funcionais e requisitos de cofator, eles são classificados em quatro grupos. Os ativadores de protrombina dos Grupos A e B são metaloproteases que realizam a conversão da protrombina em meizotrombina, ativadores de protrombina dos grupos C e D são serinaproteases que convertem protrombina em trombina madura (SAJEVIC et al., 2011).

O fibrinogênio é clivado tanto por proteases de serina do veneno como por metaloproteases. Interessantemente, as proteases serínicas clivam a extremidade N-terminal das cadeias A α ou B β do fibrinogênio A ou B liberador de fibrinogênio, respectivamente, ao contrário da trombina, que libera ambos os peptídeos (PHILLIPS; SWENSON; MARKLAND, 2016).

Embora os inibidores clássicos da serina-protease inibam as ELTs a maioria não é inibida pelos inibidores da trombina, como a antitrombina III e a hirudina. As ELTs geralmente formam coágulos friáveis e translúcidos presumivelmente devido à falta de reticulação da fibrina pelo FXIIIa (SAJEVIC et al., 2011).

As SVMPs clivam seletivamente a cadeia A do fibrinogênio, mas não clivam as cadeias B β e γ e, portanto, classificam as α -fibrinogenases. Eles clivam na extremidade C-terminal da cadeia A. Produzem fibrinogênio truncado, que é incapaz de formar um coágulo de fibrina estável e inibe assim a coagulação do sangue. Esses SVMPs pertencem a todas as três classes, PI, P-II e P-III. Diferentemente das ELTs, essas SVMPs também exibem atividade fibrinolítica. Assim, eles podem ter aplicações clínicas no tratamento de trombos oclusivos (SANCHEZ et al., 2016).

SVSPs de trombina (TL-SVSPs), contém proteinases funcionalmente relacionadas à trombina. De muitas maneiras, TL-SVSPs se assemelham mais à tripsina do que a trombina, especialmente quando se considera a estrutura e a especificidade do substrato primário da fenda ativa. A interação TL-SVSP com macromoléculas em alguns casos é semelhante a trombina (VILCA-QUISPE; PONCE-SOTO; WINCK; MARANGONI, 2010).

Assim como a trombina, estas enzimas liberam fibrinopéptidos por clivagem das ligações Arg-Lys nas cadeias α e β do fibrinogênio, convertendo assim o fibrinogênio na fibrina. Ao contrário da trombina, que cliva ambas as cadeias, a maioria dos TL-SVSPs cliva a cadeia α ou β , liberando o fibrinopeptídeo α (FP α) ou o fibrinopéptido β (FP β), respectivamente (PHILLIPS; SWENSON; MARKLAND, 2016).

Os monómeros de fibrina espontaneamente polimerizam após a liberação de fibrinopéptidos, formando um trombo tênue. Enquanto a trombina ativa proteoliticamente o fator XIII, a maioria dos TL-SVSPs não. Assim, o trombo formado por TL-SVSPs é rapidamente dissolvido por plasmina. Esta formação repetida e subsequente dissolução de trombos tênues produz uma coagulopatia de consumo, levando à incapacidade de formar trombos estáveis. Isso contrasta com a trombina, que serve para formar trombos estáveis (KUMAR; ABBAS; FAUSTO; ASTER, 2014).

CONCLUSÃO

Com base nessas implicações, reforçamos que os distúrbios da hemostasia apresentados por pacientes vítimas de ofidismo, decorrem da ação de toxinas que apresentam múltiplos alvos sobre diferentes fatores da cascata de coagulação sanguínea. O bom conhecimento sobre tais mecanismos de ação colaboram para melhorias no diagnóstico e tratamento de pacientes acometidos por serpentes, bem como no acompanhamento da evolução do quadro clínico através de exames laboratoriais que avaliem dosagens de determinados fatores de coagulação.

REFERÊNCIAS

- FRANÇA, F. O. S.; MÁLAQUE, C. M. S. **Acidente botrópico**. In: CARDOSO, J. L.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F.H.; MÁLAQUE, C. M. S.; JR, V. H. *Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica*. 2 ed. São Paulo: SARVIER, 2009.
- HALL, J. E. **Guyton E Hall Tratado De Fisiologia Médica**. Elsevier Brasil, 2017. JACKSON, T. N.; KOLUDAROV, I.; ALI, S. A.; DOBSON, J.; ZDENEK, C. N.;
- DASHEVSKY, D.; CIPRIANI, V. Rapid radiations and the race to redundancy: An investigation of the evolution of Australian elapid snake venoms. **Toxins**, v. 8, n. 11, p. 309, 2016
- KANG, T.S.; GEORGIEVA, D.; GENOV, N.; MURAKAMI, M.T.; SINHA, M.; KUMAR, R.P.; KAUR, P.; KUMAR, S.; DEY, S.; SHARMA, S.; VRIELINK, A.; BETZEL, C.;
- TAKEDA, S.; ARNI, R.K.; SINGH, T.P.; KINI, R.M. Enzymatic toxins from snake venom: structural characterization and mechanism of catalysis. **FEBS J.**, v. 278, n. 23, p. 4544-4576, 2011.
- KINI, R. M.; KOH, C. Y. Metalloproteases affecting blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation from snake venoms: definition and nomenclature of interaction sites. **Toxins**, v. 8, n. 10, p. 284, 2016.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. **Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book**. elsevier health sciences, 2014.
- MACKESSY, S. P. **Handbook of venoms and toxins of reptiles**. CRC press, 2016.
- MAGALHÃES, H. I.; DE ALMEIDA, A. L. M. C.; DA SILVA, G. R.; RABELO, J. I. D. L. B.; DA SILVA, P. M. G.; LACERDA, N. P. Relato de acidente botrópico que resultou em amputação. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 10, n. 1, 2017.
- PHILLIPS, D. J.; SWENSON, D.; MARKLAND, F. S. Thrombin-Like Snake Venom Serine Proteinases. In: MACKESSY, S. P. **Handbook of venoms and toxins of reptiles**. CRC press, 2016.
- SAJEVIC, T.; LEONARDI, A.; KRIŽAJ, I. Haemostatically active proteins in snake venoms. **Toxicon**, v. 57, n. 5, p. 627-645, 2011.

SANCHEZ, E. F.; FLORES-ORTIZ, R. J.; ALVARENGA, V. G.; EBLE, J. A. Direct Fibrinolytic Snake Venom Metalloproteinases Affecting Hemostasis: Structural, Biochemical Features and Therapeutic Potential. **Toxins**, v. 9, n. 12, p. 392, 2017

SANO-MARTINS, I.S.; SANTORO, M.L. Fisiopatologia em acidentes por animais peçonhentos na América. In: CARDOSO, João Luiz Costa et al. Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. **Sarvier**, 2009.

VILCA-QUISPE, A., PONCE-SOTO, L. A., WINCK, F. V., MARANGONI, S. Isolation and characterization of a new serine protease with thrombin-like activity (TLBm) from the venom of the snake *Bothrops marajoensis*. **Toxicon**, v. 55, n. 4, p. 745-753, 2010.

FISIOPATOGENIA DA DOENÇA DE VON WILLEBRAND CANINA

Joselma da Silva Cavalcanti Bertoldo¹, Keylla Raíssa Soares Pereira de Melo¹, Natália Cyntia Alves Medeiros¹, Lucilo bioni da Fonseca Filho², Júlio Cezar dos Santos Nascimento²

¹ Discentes do curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Maurício de Nassau, Recife – PE., ²Universidade Federal Rural de Pernambuco.

RESUMO

Introdução: A doença de von Willebrand (DvW) resulta de um distúrbio hemorrágico hereditário extrínseco às plaquetas que acomete particularmente cães da raça Dobermann, Terrier Escocês e Pastor Shetland. Conforme a fisiopatologia é classificada em DvW tipo 1, DvW tipo 2 e DvW tipo 3. **Objetivo:** Discorrer sobre informações relevantes inerente a fisiopatologia da doença de von Willebrand (DvW) em cães. **Metodologia:** Trabalho elaborado a partir de artigos científicos e dissertações indexados nas bases de dados Scielo, NCBI, PubMed e Fapesp. **Revisão:** Cães portadores de deficiências vinculada ao Fator de VonWillebrand (FvW), clinicamente apresentam desordens de coagulação típico de um transtorno de hemostasia primária. A redução dos níveis plasmáticos ou mudanças estruturais na glicoproteína FvW durante a biossíntese nos megacariócitos e células endoteliais, repercute em quadros hemorrágicos que caracterizam a DvW. **Conclusão:** É de suma importância concluir que a carência de conhecimentos da patofisiologia e fatores predisponentes envolvidos na ocorrência da DvW, pode dificultar a acurácia no diagnóstico e repercutir em abordagens terapêuticas ineficientes.

Palavras-Chave: Genética, Hereditariedade, Von Willebrand

INTRODUÇÃO

A doença de von Willebrand (DvW) é uma coagulopatia caracterizada clinicamente por manifestações hemorrágicas de ordem hereditária e caráter autossômico dominante ou recessivo (JOÃO, 2001; MATOS; MAGALHÃES, 2011). Dentre as coagulopatias descritas na medicina veterinária, a DvW é a mais prevalente em cães, originada por defeitos/carências quantitativas ou qualitativas do fator de Von Willebrand (FvW) (MATTOSO, 2010). O FvW executa funções importantes na hemostasia sanguínea, tais como: ~~exerce~~ adesão plaquetária ao local de injúria vascular e estabiliza funcionalmente carreando o fator VIII no processo de coagulação (PINHEIRO et al., 2017). É considerado uma proteína sintetizada exclusivamente nos megacariócitos e células endoteliais, sendo encontrada comumente nos grânulos alfa das plaquetas, no plasma e no subendotélio (TREVISANI, 2012). No entanto, em indivíduos de herança autossômica, ocorre mudanças espontâneas na região promotora do gene do FvW canino, localizado no cromossomo 27, ocasionando alterações quantitativas (concentração) e qualitativas (funcional) (CARVALHO et al., 2013). Conforme a expressão gênica decorrente do polimorfismo, a DvW recebe três classificações segundo a International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) (PARO, 2012). Em cães a classificação é baseada na gravidade clínica, na concentração plasmática do FvW e nas estruturas multiméricas do FvW (DALMOLIN et al., 2017). De acordo com a sua patofisiologia, as alterações na concentração ocasionam a DvW tipo 1 (deficiência parcial do FvW) e 3 (deficiência absoluta do FvW) e as alterações funcionais resultam no tipo 2 (BRASIL, 2006; DALMOLIN et al., 2015). Entretanto em alguns pacientes a DvW está associada a uma deficiência plasmática de FVIII (SMITH, 2009). Essa manifestação hereditária ocorre particularmente no Dobermann, Terrier Escocês e Pastor Shetland, porém, cães místicos são raramente afetados (LOBODZINSKA; GRUSZCZYNSKA, 2013; DALMOLIN, 2015), existindo possivelmente a ligação entre a cor da pelagem e a ocorrência da DvW (RIEHL et al., 2000).

OBJETIVO

Esse trabalho tem como objetivo abordar sobre a doença de von Willebrand (DvW) em cães numa perspectiva fisiopatológica conforme levantamento científico na literatura atual.

METODOLOGIA

A elaboração desse trabalho foi fundamentada em pesquisas de artigos em inglês e português indexados nas bases de dados Scielo, NCBI, PubMed e Fapesp, incluindo dissertações de mestrado e doutorado.

REVISÃO

Segundo Smith (2009) ao revisar o modelo atual que descreve os processos de coagulação, afirma que a função plaquetária normal é vital na hemostasia, no entanto, os controles são necessários para limitar a coagulação ao local da lesão. Após injúria vascular, o FvW liga-se ao colágeno subendotelial e assume mudanças estruturais que facilitam a sua interação com as proteínas de membrana plaquetária IIb/IIIa, permitindo a adesão das plaquetas ao local de hemorragia (JOÃO, 2001; BIJAK et al., 2015). As células endoteliais são os maiores locais de síntese e armazenamento do FvW em cães, sendo produzido também pelos megacariócitos (MATTOSO, 2010), mas em situações de redução dos níveis plasmáticos ou mudanças de conformação estrutural, irá repercutir diretamente na agregação plaquetária (SMITH, 2009). A combinação de fatores genéticos e ambientais determinam a presença e a gravidade desse distúrbio hemorrágico (BRASIL, 2006). As desordens de coagulação decorrente de falhas na hemostasia, principalmente na DvW, resultam em mucosas hipocoradas, desidratação, taquicardia, hipertermia, apatia, dispnéia grave, estertores, condição corporal magra, melena, anemias graves, hipóxia tecidual, hipovolemia, hipoproteinemia e comprometimento de sistemas como SNC ou urinário (DALMOLIN et al., 2017). A sintomatologia e evolução clínica é típico de um transtorno de hemostasia primária devido a severa redução do hematócrito e das proteínas plasmáticas totais, o que conduz à quadros de anemia severa (BARBOSA et al., 2007). Inicialmente, os quadros de anemia apresentam-se como macrocíticas e hipocrômicas, evoluem para normocítica e normocrômica e posteriormente microcítica e hipocrômica, onde os eritóides perdem a capacidade regenerativa (NAIGAMWALLA et al., 2012). Clinicamente, a DvW se expressa assumindo padrões de sangramento espontâneo com níveis plaquetário normal (PINHEIRO et al., 2017) e prolongamento do tempo de sangramento da mucosa bucal (TSMB), uma característica importantíssima a ser considerada na clínica (DALMOLIN et al., 2017). Algumas vezes, hemorragia prolongada após procedimentos cirúrgicos ou trauma pode ser o primeiro sinal apresentado, além da cicatrização deficiente (BARR; McMICHAEL, 2012). A deficiência na síntese do FvW, associado ao não a diminuição dos níveis do FVIII coagulante, reflete em prejuízos na formação da ponte intraplaquetária próximo a lesão subendotelial que consequentemente promove bloqueios na aderência plaquetária (CARDENAS; TATUM, 2008). Com isso, a integridade vascular anteriormente perdida, permanece desvinculada do processo de depósitos de fibrina em função de defeitos extrínsecos à plaqueta, ocasionando a DvW (DALMOLIN, 2015). É importante destacar que a probabilidade dos cães apresentar hemorragias está vinculada à redução da concentração plasmática do FvW (MATOS; MAGALHÃES, 2011; PARO, 2012), logo a DvW tipo 3, resultado da deficiência absoluta do FvW conduz às formas mais graves de hemorragia (JOÃO, 2001). Proprietários e especialistas em clínica de pequenos animais, devem estar cientes que cães portadores precisam ser esterilizados e a manifestação clínica normalmente é agravada por doenças infecciosas ou endocrinológicas concomitantes (LOBODZINSKA; GRUSZCZYNSKA, 2013).

CONCLUSÃO

É de suma importância concluir que a carência de conhecimentos da patofisiologia e fatores predisponentes envolvidos na ocorrência da DvW, pode dificultar a acurácia no diagnóstico e repercutir em abordagens terapêuticas ineficientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, F. T.; CUNHA, R. M.; BARBOSA, L. T. Doença de von Willebrand e Anestesia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 57, n. 3, p. 315 – 323, 2007.

BARR, J. W.; McMICHAEL, M. Inherited disorders of hemostasis in dogs and cats. **Companion Animal Medicine**, v. 27, p. 53 – 58, 2012.

BIJAK, M.; RZEZNICKA, P.; SALUK, J.; NOWAK, P. Cellular model of blood coagulation process. **Pol Merkur Lekarski**, v. 39, p. 5 – 8, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Manual de diagnóstico e tratamento da doença de von Willebrand. Brasília, 2006.

CARDENAS, E. D.; TATUM, O. L. Von Willebrand Disease: Elucidating the Clinical Picture Through the Use of Molecular Methods. **Laboratory Medicine**, v. 39, n. 12, 2008.

CARVALHO, T. S.; FAGUNDES, T. A.; ARRUDA, G.; FOLLADOR, F. A. Coagulopatias hereditárias: hemofilias e doença de Von Willebrand que incidem na região de abrangência na 8º regional de saúde. In: II CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA EM CIÊNCIAS SOCIAIS APLICADAS – II CONAPE, 10, 2013, Francisco Beltrão. **Anais Eletrônicos**. Francisco Beltrão, 2013. Disponível em: <http://cacphp.unioeste.br/eventos/conape/anais/ii_conape/Arquivos/medicina/Artigo15_9.pdf>. Acesso em 26 de Jun. 2018.

DALMILIN, M. L.; LASTA, C. S.; LACERDA, L. A.; CAMARGO, V.; COUTINHO, M. L.; JUNIOR, I. S. Doença de Von Willebrand tipo 1 grave em cão da raça são bernardo – apresentação clínica e perfil de hemostasia. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 1, p. 114 – 119, 2017a.

DALMOLIN, M. L. Avaliação da hemostasia em cães: Fator de von Willebrand e tempo de protrombina e tromboplastina parcial ativada. Tese (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014b.

JOÃO, C. Doença de von Willebrand. **Medicina Interna**. v. 8, n. 1, p. 28 – 36, 2001.

LOBODZINSKA, A.; GRUSZCZYNSKA, J. Canine von Willebrand's disease – knowledge and awareness among dog breeders and owners in Poland. **Animal Science**, n. 52, p. 95 – 103, 2013.

MATTOSO, C. R. Doença de Von Willebrand em cães: Estudo da prevalência e caracterização da doença em cães normais e fêmeas durante o ciclo estral, gestação e lactação. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

MATOS, R.; MAGALHÃES, S. R. Doença de von Willebrand. **Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 1, n. 2, p. 17-20, 2011.

NAIGAMWALLA, D. Z.; WEBB, J. A.; GIGER, U. Iron deficiency anemia. **Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 3, p. 250 – 256, 2012.

NOMURA, R. M.; IGAI, A. M.; ZUGAIB, M. Complicações do parto e resultados perinatais em gestantes portadoras da doença de Von Willebrand. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 54, n. 5, p. 442 – 446, 2008.

PARO, M. O. Peptídeos antigênicos indutores de anticorpos específicos para identificação de alterações de maior prevalência do subtipo 2B da Doença de Von Willebrand e do fator de Von Willebrand normal. Tese (Mestrado). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2012.

PINHEIRO, Y. T.; SILVA, E. C.; MACIEL, M. A.; SOUZA, E. T. Hemofilias e Doença de von Willebrand: uma revisão de literatura. **Archives of Health Investigation**, v. 6, n. 5, p. 218-221, 2017.

RIEHL, L.; OKURA, H.; MIGNOT, E.; NISHINO, S. Herança da doença de von Willebrand em uma colônia de Doberman Pinschers. **Jornal Americano de investigação veterinária**, v. 61, n. 2, p. 15 – 20, 2000.

SMITH, S. The cell-based model of coagulation. **Journal of Veterinary Emergency and Criticalcare**, v. 19, n. 1, p. 3 – 10, 2009.

TREVISANI, B. Estudo da composição multimérica do fator de Von Willebrand plasmático e intraplaquetário em pacientes com hipertensão arterial pulmonar. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011

DO GENOMA AS TOXINAS: INFLUÊNCIA DA DUPLICAÇÃO GÊNICA SOBRE A COMPOSIÇÃO DE VENENOS ANIMAIS

Evaldo Joaquim de Farias Filho¹, Joeliton dos Santos Cavalcante¹, Raysla Maria de Souza Almeida¹, Camila Cavalcante de Albuquerque¹, Júlia Evelyn de Sousa Rodrigues¹, Janicleide dos Santos Cavalcante¹, Mikaelly Batista da Silva¹, Cayo Antônio Soares de Almeida²

¹ Universidade Estadual da Paraíba, UEPB-PB Universidade Federal do ABC, UFABC-SP

RESUMO

Introdução: A duplicação gênica é um processo onde ocorre a duplicação de uma região de DNA codificante, podendo ser decorrente de um erro na recombinação homóloga, um evento de retrotransposição ou duplicação de um cromossomo inteiro. **Objetivo:** Este estudo buscou esclarecer possíveis vantagens e desvantagens para o organismo, bem como, conhecer um pouco sobre a evolução de toxinas por redundância. **Método:** Trata-se de um estudo de abordagem qualitativa que adota o método de revisão integrativa. **Revisão:** Genes de toxina do veneno evoluem quando os genes das proteínas reguladoras endofisiológicas são duplicados e os padrões de expressão de uma das cópias são modificados de tal modo que são recrutados ou restritos à glândula de veneno. Com base nos dados obtidos acredita-se que as duplicações de genes em glândulas de veneno atuam influenciando de forma relevante a composição das toxinas de tal modo que a função do gene muda de endofisiológico (dentro do corpo do organismo produtor) para exofisiológico (fora do corpo do organismo produtor), onde a neofuncionalização é o que define uma proteína como uma toxina. Um grande número de duplicações de genes frequentemente codificam proteínas com a mesma função. Para manter a redundância, genes duplicados vulneráveis à sensibilidade à dosagem devem ter seus níveis de expressão rigidamente regulados: quanto mais cópias sinônimas, menor o nível de expressão. **Conclusão:** A duplicação pode, de fato, contribuir para sua captação de proteínas como toxina do veneno. Independentemente disso, a seleção atua na fixação ou purificação de genes duplicados após ocorrer duplicação gênica.

INTRODUÇÃO

A existência de genes com alto grau de semelhança, às vezes em estreita proximidade física, que muitas vezes formam “clusters” de chamados genes parálogos, são um dos mais claros exemplos de como novos genes podem surgir. Isto é, a partir de ‘velhos’ genes. A duplicação gênica consiste num processo onde ocorre a duplicação de uma região de DNA que contém um gene; podendo ocorrer como um erro na recombinação homóloga, um evento de retrotransposição ou duplicação de um cromossoma inteiro (GRIFFITHS et al., 2006).

A existência de uma cópia de um determinado gene consiste num evento singular que leva a evolução do genoma. Através da duplicação um dos genes conserva sua função original, contrastando, o outro pode acumular mutações resultando na aquisição de novas funções (Long, 2001). Entretanto, mesmo que uma parte dos genes originados através da duplicação sofram pseudogenização, vários deles podem fixar e manter suas atividades funcionais através de processos como: neofuncionalização, subfuncionalização ou evolução de redundância (Zhou; Wang, 2008).

A neofuncionalização consiste na aquisição de novas funções por um gene duplicado, enquanto o outro conserva a atividade original, sendo assim mantem-se ancestral. Por outro lado, a subfuncionalização se dá quando a função de um gene é dividida entre as cópias duplicadas, um evento que ocorre principalmente pela degeneração complementar dos elementos regulatórios. Por fim, a evolução por redundância é deflagrada quando ocorre um aumento quantitativo de genes por duplicação favorecido por seleção natural, assim as cópias apresentam-se funcionalmente iguais e coexistem de forma inalterada no genoma (ZHOU; WANG, 2008).

OBJETIVO

Analisar estudos publicados em periódicos científicos acerca da duplicação gênica em venenos animais, a fim de esclarecer possíveis vantagens e desvantagens para o organismo e conhecer um pouco sobre processo de evolução de toxinas por redundância.

METODOLOGIA

Para a realização dessa revisão sistemática foi realizada uma busca de estudos nas seguintes bases de dados: MDPI, Medline (via Pubmed), Scopus, Web of Science e Scielo. A busca foi realizada entre Março e Maio de 2018 utilizando os seguintes descritores: “duplicação gênica”, “venenos de serpentes”, “redundância”, “neofuncionalização” e “subfuncionalização”

REVISÃO

Um processo pouco difundido no ramo da pesquisa genética e que acontece de forma aleatória, a duplicação gênica é influenciada por certos fatores, entre eles: a taxa de evolução do gene original e sua contribuição para a aptidão do organismo (CONANT, WOLFE, 2008). Após duplicação, a manutenção de duplicatas é influenciada pela deriva genética e seleção. Cópias com mutações sinônimas via deriva genética podem ser mantidas, embora com sua expressão regulada para baixo (KONDRASHOV, 2012).

A manutenção de redes de genes sinônimos que codificam produtos funcionalmente equivalentes é referida como redundância genética. Mutações que comprometem a função da proteína, podem ser eliminadas, enquanto mutações que conferem vantagens podem facilitar a aquisição de novas funções, um processo conhecido como neofuncionalização. Um modelo alternativo de fixação duplicada é a subfuncionalização, na qual um gene-pai com múltiplas funções, talvez uma primária e outra secundária, é duplicado e suas funções herdadas pelos genes-filhos (BERGTHORSSON et al., 2007).

Acredita-se que genes de toxina do veneno evoluem quando os genes das proteínas reguladoras endofisiológicas são duplicados e os padrões de expressão de uma das cópias são modificados de tal modo que são recrutados ou restritos à glândula de veneno (FRY, 2005).

Ao se tornar parte do sistema de veneno, a função do gene muda de endofisiológico (dentro do corpo do organismo produtor) para exofisiológico (fora do corpo do organismo produtor). Esse evento dramático de neofuncionalização é o que define uma proteína como uma toxina, e libera o gene que a codifica. Muitas das restrições que afetam a evolução de duplicatas de genes que continuam a codificar proteínas endofisiológicas. Entre as diversas restrições, a principal é a sensibilidade à dosagem. A hipótese da balança de dosagem postula que a sensibilidade ao aumento de quantidades de produtos gênicos pode ser um fator na prevenção da duplicação de certos genes ou na rápida purificação de duplicatas pela purificação da seleção (KONDRASHOV, 2012).

Assim, nos principais sistemas endofisiológicos, a sensibilidade à dosagem é uma barreira à neofuncionalização. Quando o aumento da dosagem gênica é vantajoso, a duplicação de benefício de aptidão imediata confere a seleção de funções adicionais ou a reificação de epifenômenos (fixação de um duplicado por seleção para uma propriedade previamente não selecionada do produto gênico) (ANDERSSON; NÄSVALL, 2013).

Os genes do veneno escapam aos efeitos deletérios da sensibilidade à dosagem através de sua amplificação seletiva na glândula de veneno. De fato, doses aumentadas de toxinas de veneno, particularmente aquelas com atividades estequiométricas (por exemplo, peptídeos não enzimáticos), provavelmente conferem um benefício de aptidão ao organismo venenoso, aumentando a toxicidade geral do veneno e facilitando a reposição rápida de estoques de veneno (MORGENSTERN; KING, 2013). A duplicação de genes de veneno, portanto, pode ser muito menos restrita que a de genes que codificam produtos reguladores, uma hipótese apoiada pela frequência incomum de duplicação entre certos peptídeos de veneno (CHANG; DUDA JR, 2012).

Uma consequência de restrições na manutenção de duplicatas em genes de veneno é um maior grau de redundância genética incluindo alvos das toxinas, podendo capacitá-los a “evoluir” das defesas moleculares dos organismos presas. Um grande número de parálogos (duplicações de genes) frequentemente codificam proteínas com a mesma função (ZHANG, 2012). Para manter a redundância, genes duplicados vulneráveis à sensibilidade à dosagem devem ter seus níveis de expressão rigidamente regulados: quanto mais cópias sinônimas, menor o nível de expressão (KONDRASHOV, 2012).

Ter numerosos isotipos de toxina dentro do mesmo veneno que visam o mesmo receptor pode, assim como aumentar a possibilidade de neofuncionalização da toxina, diminuir a probabilidade de desenvolvimento de receptores resistentes, porque qualquer nova mutação que confere resistência a um isotipo pode não conferir resistência a outro. Uma tal mutação potencialmente benéfica pode assim ser impedida de ir para a fixação dentro de uma população porque pode não proporcionar um benefício selecionável em termos de resistência total ao veneno (JACKSON et al., 2016).

CONCLUSÃO

A duplicação pode, de fato, contribuir para sua captação de proteínas como toxina do veneno. Independentemente disso, a seleção atua na fixação ou purificação de genes duplicados após ocorrer duplicação gênica. Nós discutimos acima maneiras em que as toxinas do veneno podem escapar da influência da seleção purificadora. Além disso, a seleção para dosagem aumentada provavelmente fixará genes de veneno duplicados, pois isso pode aumentar a toxicidade do veneno. Isto é particularmente importante para toxinas com atividades estequiométricas, tais como peptídeos, que de fato apresentam as mais altas taxas de duplicação

REFERÊNCIAS

- ANDERSSON, Dan I.; NÄSVALL, Joakim. New genes arise via innovation, amplification, divergence: Copied genes provide a means for maintaining one essential function while developing another. **Microbe Mag**, v. 8, p. 166-170, 2013.
- BERGTHORSSON, Ulfar; ANDERSSON, Dan I.; ROTH, John R. Ohno's dilemma: evolution of new genes under continuous selection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 43, p. 17004-17009, 2007.

CEREDA, Matteo; MOURIKIS, Thanos P.; CICCARELLI, Francesca D. Genetic redundancy, functional compensation, and cancer vulnerability. **Trends in cancer**, v. 2, n. 4, p. 160-162, 2016.

CHANG, Dan; DUDA JR, Thomas F. Extensive and continuous duplication facilitates rapid evolution and diversification of gene families. **Molecular biology and evolution**, v. 29, n. 8, p. 2019-2029, 2012.

CONANT, Gavin C.; WOLFE, Kenneth H. Turning a hobby into a job: how duplicated genes find new functions. **Nature Reviews Genetics**, v. 9, n. 12, p. 938, 2008.

FRY, Bryan G. From genome to “venome”: molecular origin and evolution of the snake venom proteome inferred from phylogenetic analysis of toxin sequences and related body proteins. **Genome research**, v. 15, n. 3, p. 403-420, 2005.

GRIFFITHS, Anthony JF et al. Introdução à genética. In: Introdução à genética. 2006.

INNAN, Hideki; KONDRASHOV, Fyodor. The evolution of gene duplications: classifying and distinguishing between models. **Nature Reviews Genetics**, v. 11, n. 2, p. 97, 2010.

JACKSON, Timothy NW et al. Rapid radiations and the race to redundancy: An investigation of the evolution of Australian elapid snake venoms. **Toxins**, v. 8, n. 11, p. 309, 2016.

KONDRASHOV, Fyodor A. Gene duplication as a mechanism of genomic adaptation to a changing environment. **Proc. R. Soc. B**, v. 279, n. 1749, p. 5048-5057, 2012.

LONG, Manyuan. Evolution of novel genes. **Curret opinion in genetics e development**, v. 11, n. 6, p. 673-680, 2001.

MORGENSTERN, David; KING, Glenn F. The venom optimization hypothesis revisited. **Toxicon**, v. 63, p. 120-128, 2013.

SIMON-LORIERE, Etienne; HOLMES, Edward C. Gene duplication is infrequent in the recent evolutionary history of RNA viruses. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 6, p. 1263-1269, 2013.

ZHANG, Jianzhi. Genetic redundancies and their evolutionary maintenance. In: **Evolutionary systems biology**. Springer, New York, NY, 2012. p. 279-300.

ZHOU, Qi; WANG, Wen. On the origin and evolution of new genes—a genomic and experimental perspective. **Journal of Genetics and Genomics**, v. 35, n. 11, p. 639-648, 2008.

TRANSCRIPTÔMICA EMPREGADA AO ESTUDO DE VENENOS ANIMAIS: DESMASCARANDO NOVOS VILÕES ENTRE A MULTIDÃO

Evaldo Joaquim de Farias Filho¹, Joeliton dos Santos Cavalcante², Raysla Maria de Souza Almeida³, Camila Cavalcante de Albuquerque⁴, Júlia Evelyn de Sousa Rodrigues⁵, Janicleide dos Santos Cavalcante⁶, Mikaelly Batista da Silva⁷, Cayo Antônio Soares de Almeida⁸

Universidade Estadual da Paraíba, UEPB-PB¹, Universidade Federal do ABC, UFABC-SP²

RESUMO

Introdução: A intensificação do estudo de venenos possibilitou a Toxinologia evoluir para além do trabalho descritivo, passando a incluir aspectos de praticamente todas as áreas da ciência, com o objetivo de elucidar os mecanismos pelos quais ocorrem os processos fisiopatológicos decorrente da ação das toxinas animais e inibi-las. As ferramentas modernas da genética e bioinformática têm sido desenvolvidas de forma renovada em novidades, ajudando a pesquisa experimental sobre as toxinas potencialmente interessantes. **Objetivo:** O presente estudo buscou analisar estudos publicados em periódicos a fim de esclarecer o processo de transcriptômica no estudo de glândulas de venenos animais. **Método:** Trata-se de um estudo de abordagem qualitativa que adota o método de revisão integrativa. **Revisão:** A análise transcriptômica da glândula venômica de serpentes dá-se pela geração de tags de sequência expressa, que consiste no sequenciamento aleatório dos clones de bibliotecas de cDNA. A montagem e análise da informação genômica requerem um substancial comprometimento da bioinformática, plataformas NGS produzem uma codificação de transcrição de sequência abrangente de peptídeos de veneno e proteínas, complementando a PCR, que só poderiam descobrir transcritos de toxinas já descobertos em outras espécies a partir de estudos proteômicos. As tecnologias NGS mais comuns usadas para transcriptômica de veneno, procedem fragmentando o cDNA e sequenciando a totalidade ou parte desses fragmentos. **Conclusão:** A análise transcriptômica fornece informações sobre o perfil proteico do veneno de serpente e pode ser usada para descobrir novos peptídeos putativos e suas isoformas, ou peptídeos que são pouco expressos e de difícil identificação por análise proteômica.

INTRODUÇÃO

A intensificação do estudo de venenos tornou a Toxinologia uma disciplina formalizada, devido à grande necessidade de investigações descritivas dos venenos e toxinas, uma vez que há venenos de várias espécies que são ainda inteiramente ou parcialmente desconhecidos.

Porém, a Toxinologia evoluiu para além do trabalho descritivo, passando a incluir aspectos de praticamente todas as áreas da ciência, com o objetivo de elucidar os mecanismos pelos quais ocorrem os processos fisiopatológicos decorrente da ação das toxinas animais, como impedi-las e trata-las (FOX; SERRANO, 2009).

A Toxinologia ofídica atualmente tem direcionado seu foco em determinar os mecanismos de ação das toxinas, encontrar formas para neutralizar a toxicidade e os efeitos adversos do envenenamento. Em adição, possibilita o desenvolvimento de ferramentas de investigação específicas úteis para a compreensão dos processos fisiológicos normais a nível celular e molecular e desenvolvimento de modelos de novos fármacos (MACKESSY, 2016).

Os estudos venômicos (proteoma e genoma de venenos) têm permitido o isolamento de proteínas e peptídeos que permitem caracterizar melhor suas atividades enzimáticas e biológicas (LOMONTE; CALVETE, 2017). As ferramentas modernas de genética e bioinformática têm sido desenvolvidas de forma renovada em novidades, ajudando a pesquisa experimental sobre as toxinas potencialmente interessantes. Algumas técnicas através da informática e transcriptômica elucidam suas estruturas e prevêem alvos moleculares de toxina e o modo de ligação a esses alvos, além de evidenciar novas toxinas não conhecidas através da transcrição do DNA de glândulas de venenos (OJEDA et al., 2017).

OBJETIVO

Analisar estudos publicados em periódicos científicos a fim de esclarecer o processo de transcriptômica aplicada ao estudo de glândulas de venenos animais.

METODOLOGIA

Para a realização dessa revisão sistemática foi realizada uma busca de estudos sobre a influência de mutações genéticas na composição de venenos nas seguintes bases de dados: MDPI, Medline (via Pubmed), Scopus, Web of Science e Scielo utilizando as seguintes palavras-chave: DNA, Transcrição, veneno de serpentes.

REVISÃO

A síntese proteica que ocorre na glândula de veneno está sujeita a complexos processos de regulação da expressão gênica, além dos processos bioquímicos que são intimamente responsáveis pela geração da diversidade encontrada na proteômica e transcriptômica, há que se considerar também que esta composição pode sofrer variações inter/intraespecíficas, em função da espécie envolvida, idade, sazonalidade e dieta. As variabilidades podem ainda está ligada ao sexo, ou conforme a distribuição geográfica e ainda por mecanismos de seleção genética (CALVETE, 2017). Dessa forma, todos esses fatores apresentados influenciam na abundância relativa de classes específicas de toxinas (JACKSON et al., 2016). Pode-se atribuir a esse conjunto de fatores a base molecular manual dos espectros de massas correspondentes a peptídeos de veneno de serpentes é frequentemente adotada por pesquisadores na área de toxinologia (ZELANI, 2012).

Dado que a maioria dos péptidos de venenos de serpente apresentam aproximadamente 100 resíduos, o sequenciamento de ESTs produz frequentemente a sequência completa de DNA de um péptido (SUNTRAVAT et al., 2016). Esse sistema de análise (ESTs), torna-se mais vantajoso por ser mais prático em contraste com a análise da sequência total do cDNA, já que este utiliza primers de caráter universal que permitem leituras das extremidades 3' e 5' dos cDNAs, o que já é suficiente para sua identificação. O protocolo apresenta basicamente quatro etapas: (a) extração, purificação e análise do RNA, (b) construção de bibliotecas de cDNA, (c) geração das ESTs e (d) análise bioinformática das ESTs (TAN et al., 2015).

A análise transcriptômica da glândula de venenos de serpentes dá-se pela geração de tags de sequência expressa (ESTs - *Expressed Sequence Tags*) que se baseia no sequenciamento de forma aleatória dos clones de bibliotecas de cDNA, fornecendo conseqüentemente uma amostra que em termos estatísticos é bastante representativa da grande diversidade da expressão gênica no sistema (glândula de veneno). Adicionalmente, tanto qualitativamente quanto quantitativamente, esta análise é uma forma de representação dos mRNAs que são expressos (LEE et al., 1995).

A transcriptômica de glândulas de venenos de serpentes permite a análise indireta de uma composição venômica a partir do sequenciamento parcial de cDNAs. Uma grande quantidade de clones são obtidos por meio de pequenas quantidades de RNA, podendo ser perpetuadas sem necessidade de muito material biológico (TAN et al., 2017).

O sequenciamento do genoma da glândula de veneno ainda é altamente dispendioso, e a montagem da informação genômica e sua análise requerem um substancial comprometimento da bioinformática (CASTOE et al., 2013). Em contraste, o sequenciamento de bibliotecas de cDNA criadas a partir do mRNA da glândula de veneno usando sequenciamento de nova geração (NGS) e sua montagem se tornaram mainstream na pesquisa. Os transcriptomas de vários venenos de cobra foram relatados (SUNTRAVAT et al., 2016; TAN et al., 2017).

A partir da construção de uma biblioteca de cDNA a partir da glândula de veneno de *B. colombiensis*, e um conjunto de 729 tags de sequência expressa de alta qualidade (ESTs) foi identificado um total de 344 ESTs (47,2% do total de ESTs) relacionado a toxinas. Os transcritos de toxina mais abundantes foram metaloproteinases (37,5%), fosfolipases A2s (PLA2, 29,7%) e serinoproteinases (11,9%). Transcritos menores de toxina foram ligados a waprins (5,5%), lectinas do tipo C (4,1%), ATPases (2,9%), proteínas secretoras ricas em cisteína (CRISP, 2,3%), fatores de crescimento do endotélio vascular do veneno de serpente (svVEGF, 2,3%), L-aminoácidos oxidases (2%) e outras toxinas putativas (1,7%). Enquanto 160 ESTs (22% do total de ESTs) codificaram proteínas de tradução, proteínas reguladoras, proteínas ribossômicas, fatores de alongamento, fatores de liberação, proteínas metabólicas e proteínas de resposta imune. Outras proteínas detectadas no transcriptoma (87 ESTs, 11,9% do total de ESTs) foram proteínas não descritas com funções desconhecidas. Os restantes 138 (18,9%) cDNAs não tiveram correspondência com acessos conhecidos (SUNTRAVAT et al., 2016).

As plataformas NGS produzem uma codificação de transcrição de sequência quase abrangente codificando peptídeos de veneno e proteínas, complementando as técnicas tradicionais de PCR, que só poderiam descobrir transcritos de toxinas relacionados àqueles já descobertos em outras espécies ou a partir de estudos proteômicos. As tecnologias NGS mais comuns usadas para transcriptômica de veneno, ou seja, 454 GS FLX Titanium e Illumina, procedem fragmentando o cDNA e sequenciando a totalidade ou parte desses fragmentos (LIU et al., 2012).

CONCLUSÃO

A análise transcriptômica geralmente fornece informações sobre o perfil peptídico / proteico do veneno de serpente e pode ser usada para descobrir novos peptídeos putativos e suas isoformas, ou peptídeos que são pouco expressos e, conseqüentemente, de difícil identificação por análise proteômica. Finalmente, com os avanços da bioinformática - que não é mais que a aplicação da ciência da informação à biologia, os dados transcriptômicos da glândula de veneno são uma excelente ferramenta para estudar a evolução dos peptídeos e identificando novas toxinas.

REFERÊNCIAS

CASTOE, Todd A. et al. The Burmese python genome reveals the molecular basis for extreme adaptation in snakes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 51, p. 20645-20650, 2013.

FOX, J.W.; SERRANO, S.M. Insights into and speculations about snake venom metalloproteinase (SMVP) synthesis, folding and disulfide bond formation and their contribution to venom complexity. **FEEBS J**, v.275, n 12, p. 3016-30, 2009.

JACKSON, Timothy NW et al. Rapid radiations and the race to redundancy: An investigation of the evolution of Australian elapid snake venoms. **Toxins**, v. 8, n. 11, p. 309, 2016.

LIU, Lin et al. Comparison of next-generation sequencing systems. **BioMed Research International**, v. 2012, 2012.

LOMONTE, Bruno; CALVETE, Juan J. Strategies in ‘snake venomics’ aiming at an integrative view of compositional, functional, and immunological characteristics of venoms. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 23, n. 1, p. 26, 2017.

OJEDA, Paola G. et al. Computational Studies of Snake Venom Toxins. **Toxins**, v. 10, n. 1, p. 8, 2017.

ROTENBERG, D.; BAMBERGER, E. S.; KOCHVA, E. Studies on ribonucleic acid synthesis in the venom glands of *Vipera palaestinae* (Ophidia, Reptilia). **Biochemical Journal**, v. 121, n. 4, p. 609-612, 1971.

SUNTRAVAT, Montamas et al. Gene expression profiling of the venom gland from the Venezuelan mapanare (*Bothrops colombiensis*) using expressed sequence tags (ESTs). **BMC molecular biology**, v. 17, n. 1, p. 7, 2016.

TAN, Choo Hock et al. Venom-gland transcriptome and venom proteome of the Malaysian king cobra (*Ophiophagus hannah*). **BMC genomics**, v. 16, n. 1, p. 687, 2015.

TAN, Kae Yi et al. Comparative venom gland transcriptomics of *Naja kaouthia* (monocled cobra) from Malaysia and Thailand: elucidating geographical venom variation and insights into sequence novelty. **PeerJ**, v. 5, p. e3142, 2017.

ZELANIS, André. Abordagens sistêmicas em toxinologia: Perspectivas e implicações de metodologias ômicas no estudo de toxinas de venenos de serpentes. **Estudos de Biologia**, v. 34, n. 83, 2012.

ÁCIDO DIVARICÁTICO EXTRAÍDO DA *Romalina aspera* Räsänen: UMA ANÁLISE DE TOXICIDADE RENAL EM CAMUNDONGOS

Lucas Felipe de Melo Alcântara¹; Pedro Thiago da Silva¹; Maria Aparecida da Conceição de Lira²; Isla Vanessa Gomes Alves Bastos³, Tatiane Bezerra de Oliveira³, Teresinha Gonçalves da Silva³, Emerson Peter da Silva Falcão²; Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior⁴.

1-Licenciando em Ciências Biológicas; 2-Laboratório de Síntese de Fármacos e Isolamento Molecular/UFPE-CAV; 3-Laboratório de Prospecção Farmacotoxicológica de Produtos Bioativos, Departamento de Antibióticos – UFPE; Professor Associado I na UFPE-CAV⁴.

E-mail:lalcantara102@gmail.com

RESUMO

Introdução: Líquens são organismos cujos metabólitos secundários são amplamente descritos pelo seu potencial biológico. A *R. aspera* apresenta em sua constituição química o depsídeo, ácido divaricático, como composto majoritário. **Objetivo:** Avaliar a toxicidade dos extratos da *R. aspera* e o ácido divaricático em rim de camundongos. **Metodologia:** O material liquênico foi submetido à extração através do esgotamento a quente em aparelho de Soxhlet, seguindo a série eluotrópica dos solventes éter etílico, clorofórmio e acetona. Foram utilizados 30 camundongos albinos swiss (*Mus musculus*) do sexo masculino (25-35g), com idade de 45 dias. Foram divididos em dois grupos, GI recebeu uma substância salina + tween 80 a 5% (controle negativo), e GII recebeu extratos orgânicos e o ácido divaricático. Ambas as soluções em dose de 2000 mg.kg⁻¹ por via oral. Após a administração os animais foram observados 2 horas seguidas, depois a cada 24 horas durante 14 dias. No último dia os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, os rins foram coletados e pesados. Os órgãos foram fixados em formolaldeído neutro tamponado, processados e as lamínas foram produzidas, coradas com HE, fotografadas e feita a histomorfometria utilizando o software ImageJ, posteriormente feito o teste de Mann-Whitney, tendo como valor significativo P≤0,005. **Resultados:** Não ocorreu mortalidade no período de observação. Houve diferença significativa no peso dos rins do GII em relação ao GI. Microscopicamente foi verificada variações na área dos corpúsculos e glomérulos em relação ao grupo controle. **Conclusão:** Foram adquiridos os extratos de interesse e o ácido divaricático com um bom nível de pureza. Na análise de toxicidade *in vivo*, foram vistas alterações na morfologia renal.

Palavras-Chave: Líquen; Ácido Divaricático; Ramalina; Rim; Camundongo.

INTRODUÇÃO:

Nos últimos anos pôde-se verificar um aumento das pesquisas em relação aos produtos de origem natural, importantes fontes de moléculas bioativas aplicáveis a diversas patologias (Rouhi; Washington, 2003), o que é corroborado por Newman e Cragg (2007), que relatam o papel dos compostos de origem natural como fontes promissoras de novas drogas.

Os líquens produzem uma grande variedade de substâncias bioativas com propriedades biológicas tais como, atividade antimicrobiana (Falcão et al., 2004), citotóxica (Brandão et al., 2013), antitumoral (Zugic et al., 2016), anti-inflamatória (Choudhary et al., 2005).

Diante da necessidade de encontrar novas substâncias capazes de limitar a toxidez celular, diminuindo ou eliminando os efeitos colaterais no organismo, e tendo em vista que os compostos liquênicos têm se mostrado agentes promissores para este fim, este trabalho descreve uma avaliação da toxicidade aguda *in vivo* dos extratos orgânicos de *R. aspera* e do seu composto principal, o ácido divaricático

METODOLOGIA:

A *Ramalina aspera* Räsänen (líquen) foi coletada no município de Limoeiro, situado no agreste Pernambucano, Nordeste do Brasil. Altitude de 138 m e coordenadas de latitude 07° 52' 29'' S e longitude de 35° 27' 01'' O. As amostras foram identificadas pela Dr^a Maria de Lourdes Lacerda Buriel, do Laboratório de Química de Produtos Naturais do Departamento de Bioquímica - UFPE, uma exsicata da amostra foi depositada no Herbário UFPE - Geraldo Mariz, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pernambuco sob o número de depósito UFP 81.233.

Foram utilizados 40g do líquen macerado, posteriormente submetido à extração através do esgotamento a quente em aparelho de Soxhlet, seguindo a série eluotrópica dos solventes éter etílico, clorofórmio e acetona (200 mL), os solventes foram evaporados em rotaevaporador e o material sólido foi mantido em dessecador para posterior cálculo de seus rendimentos.

O Ácido Divaricático foi obtido por cristalização a partir do extrato etéreo, que apresentou maior rendimento e maior concentração do metabólito, foi utilizado o método de Asahina e Shibata (1954), com alterações. Foram pesados 200mg dos cristais impuros obtidos do extrato etéreo e em seguida o material sólido foi lavado sucessivamente em funil poroso G4 utilizando os solventes hexano, clorofórmio e metanol, em sequência, a pureza do material obtido foi verificado por cromatografia em camada delgada - CCD.

Os ensaios em CCD dos extratos orgânicos e composto purificado foram feitos através da metodologia descrita por Culberson (1972). As substâncias liquênicas foram diluídas até a concentração de 0,01 mg.mL⁻¹, sendo aplicados 10 µL da solução nas cromatoplasmas de sílica Gel Merck F_{254nm}. Foi utilizado como sistema de diluição a mistura tolueno:dioxano:ácido acético (180:45:5, v/v). As bandas foram observadas sob luz UV (212 e 320 nm), e reveladas com ácido sulfúrico a 10 % / 100 °C por 5 min., sendo o AD identificado por comparação com o padrão do AD, cedido pelo Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Bioquímica – UFPE.

Foram utilizados 30 camundongos albinos swiss (*Mus musculus*) machos (25-35g), com idade de 45 dias, foram mantidos em gaiolas de polipropileno, à temperatura de 22 ± 3 °C, com ciclo claro-escuro de 12 h, recebendo ração balanceada e água *ad libitum*. Os animais foram submetidos a jejum de 8 horas antes de cada experimento. Os protocolos de experimentação foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE (nº 23076.049165/2015-96), com as normas proposta pelo Conselho de Laboratório de Animais Experimentais (ICLAS) e pelas normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals.

A Toxicidade Aguda foi avaliada segundo a metodologia recomendada pela Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2001). O teste constituiu na administração da dose de 2000 mg.kg⁻¹ via oral dos extratos orgânicos e ácido divaricático em camundongos machos, enquanto outro grupo recebeu apenas solução salina + tween 80 a 5%, controle negativo. Foram utilizados 3 animais para cada composto em duplicata. Após a administração, os animais foram

observados continuamente nas primeiras duas horas e depois a cada 24 horas diariamente durante 14 dias, para a verificação da mortalidade e alguns comportamentos dos animais. Não havendo morte dos animais, a amostra será considerada atóxica. No décimo quarto dia de tratamento os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e os rins foram coletados para análise histológica.

Os rins foram clivados em plano de secção coronal, fixados em formaldeído neutro tamponado a 10% durante 48 horas em seguida foram processados em histotecnico, onde foram desidratados em concentração crescente de álcool etílico, diafanizados em xilol em seguida parafinizados. Os rins foram emblocados em parafina, cortados em micrótomo semiautomático na espessura de 4µm. Os cortes histológicos foram sobrepostos em laminas untadas com albumina, desparafinizados em estufa e corados com hematoxilina e Heosina. As laminas após montadas foram fotografadas com uma câmera acoplada ao microscópio óptico. Foram feitas 20 fotomicrografias de cada lamina em diferentes campos de visão, e posteriormente feita a mensuração dos glomérulos renais e dos corpúsculos renais. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Mann-Whitney, e teve como valor significativo $P \leq 0,005$.

RESULTADOS:

Análises da composição fenólica de *R. aspera*

Na análise em CCD dos extratos orgânicos observou-se a presença do ácido divaricático nos extratos etéreo e clorofórmico. Uma banda não identificada foi observada no extrato acetônico (Rf 0,15). O composto isolado do extrato etéreo, confirmou-se como ácido divaricático, pois o valor de seu Rf (0,57) foi confirmado com o padrão (0,55).

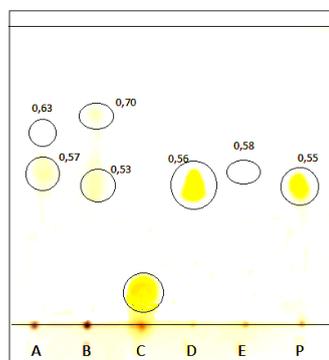


Figura 1- Análise em CCD. **A-** Extrato Etéreo; **B-** Extrato Clorofórmico; **C-** Extrato Acetônico; **D-** Ácido Divaricático isolado; **E-** Extrato Metanólico e **P-** Padrão do Ácido Divaricático.

Avaliação da Toxidez Aguda

Durante o período de observação os animais mantiveram seu comportamento natural, não apresentando estresse, desconforto e nenhum animal veio a morrer. O consumo de ração e água também se mantiveram normais, não havendo diferença estatística significativa.

Avaliação Histomorfométrica

Foi possível identificar diferenças significantes no peso dos rins dos camundongos. As áreas glomerulares e corpusculares tiveram diminuição significativa de sua área, com exceção dos camundongos que utilizaram os extratos etéreo e acetônico, como visto na Tabela 1.

Tabela 1- Análise morfológica do rim de camundongos exposto aos extratos de *R. aspera* e do ácido divaricático.

AMOSTRAS	Peso ± DP	Área Glomerular ± DP	Área Corpuscular ± DP	Teste de
<i>Extr. Etéreo</i>	0,19±0,01	29,1±11,5*	34,7±13,43*	
<i>Extr. Clorofórmico</i>	0,17±0,01	25,8±87,31	30±11,31	
<i>Extr. Acetônico</i>	0,20±0,04*	30,6±91,8*	35,3±11,41*	
<i>Ácido Divaricático</i>	0,19±0,04	27±95,62	32,3±12,52	
<i>Controle Negativo</i>	0,20±0,02	29,9±95,51	34,6±11,42	

Mann-Whitney. Dados expressos em média ± DP. (N=6); $P < 0,05$ v.s Controle. * Não significativo vs controle. CN=Controle negativo – Sanila + tween 80 a 5 %.

CONCLUSÃO:

As análises da composição dos extratos etéreo e clorofórmico, confirmaram o ácido divaricático presente em *R. aspera* como o principal componente da espécie. Na análise de toxicidade *in vivo*, todos os compostos testados apresentaram alterações aos órgãos analisados, porém nenhum animal veio a óbito.

REFERÊNCIAS:

- ASAHINA, Y., SHIBATA, S. **Chemistry of Lichen Substances**. Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, 1954.
- BRANDÃO, L. F. G., et al. Cytotoxic Evaluation of Phenolic Compounds from Lichens against Melanoma Cells. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 2, p. 176–183, 2013.
- CHOUHARY, M. I., et al. Bioactive phenolic compounds from a medicinal lichen, *Usnea longissimi*. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2346–2350, 2005.
- FALCÃO, E. P. S., et al. Atividade antimicrobiana de derivados fenólicos do líquen *Ramalina soredivosa* (B. de Lesd.) Laundron¹. **Acta Botânica Brasil**. v. 18, p. 911-918, 2004.
- NEWMAN, D. J., CRAGG, G. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 661-477, 2007.
- OECD. Organization for Economic Cooperation and Development, OECD/OCDE, Acute Oral Toxicity – Acute Toxic – Acute Toxic Class Method. **Guideline for the Testig of Chemicals**, 2001.
- [ROUHI](#), A. M., WASHINGTON, C. Rediscovering Natural Products. **Chemical & Engineering News**, v. 81, p. 77-91, 2003.
- ZUGIC, A., et al. Evaluation of Anticancer and Antioxidant Activity of a Commercially Available CO₂ Supercritical Extract of Old Man’s Beard (*Usnea barbata*). **Plos One**, p. 1-14, 2016.

ESTUDO DO POTENCIAL DA LIGNOCELULOSE COMO FONTE DE BIOCOMBUSTÍVEL JUNTO A MODELOS DE BIORREFINARIAS SUSTENTÁVEIS

Manuela Correia Dionísio¹; Crislayne Gonçalo de Santana Marinho; Ingrid Prata Mendonça; Emanuelle Maria da Silva; Maria José Bernardo da Silva Filha

¹Estudante do Curso de Biomedicina – CCB – UFPE; E-mail: manu1pe0@gmail.com

Resumo: INTRODUÇÃO: A demanda mundial por combustíveis vem aumentando, e com ela, novos desafios são gerados em relação à busca por alternativas viáveis **OBJETIVOS:** Por isso, objetivamos com essa revisão demonstrar o potencial que os resíduos sólidos gerados pela agricultura têm na produção de biocombustíveis de segunda geração, isto é, a partir da degradação da celulose. **METODOLOGIA:** Logo, revisamos artigos nos bancos de dados do NCBI, Diário Oficial da União, EMBRAPA e google scholar. **REVISÃO:** Onde obtivemos dados sobre a disponibilidade dos resíduos sólidos, e algumas das técnicas de melhoramento do processamento do material celulósico. Assim como sobre os planos de manejo previstas no Diário Oficial da União sobre o manejo adequado dos resíduos. Além de verificar que o desenvolvimento de modelos de biorrefinarias dependem da integração desses dados levantados anteriormente. **CONCLUSÃO:** Logo, verificamos que os resíduos sólidos, alicerçados a essas novas tecnologias e a planos nacionais, podem melhorar o desempenho do etanol frente à gasolina, sendo capaz de gerar modelos de biorrefinarias, e propor uma alternativa ao modelo econômico atual.

Palavras-Chave: Biocombustível; Lignocelulose; Resíduos Sólidos; Biorrefinarias

INTRODUÇÃO

Com a demanda mundial por combustíveis em torno de 12,7 bilhões de toneladas de petróleo, e em aumento. Hoje, um dos maiores desafios desse século é satisfazer o aumento dessa demanda proporcionalmente ao aumento populacional, de forma sustentável e rentável. Assim, para a obtenção da estabilidade frente a volatilidade dos preços, às questões de segurança energética, geopolíticas e climáticas envolvidas com os recursos não-renováveis. O uso de resíduos agroindustriais e florestais (biomassa), devido a sua disponibilidade, vem conduzindo ao aumento da produtividade científica acerca do seu uso na geração de biorrefinarias de economia cíclica. O que faz com que novas linhas de tecnologias como o pré-tratamento da lignina sejam discutidas, para que o seu uso em modelos de refinarias sustentáveis possa levar a uma maior competitividade desse processo frente a enorme variedade de produtos derivados do petróleo. Assim como, essas refinarias podem dar sentido a políticas pouco utilizadas como a que é acoplada ao plano de gerenciamento de resíduos sólidos, sobre a administração e o manejo de resíduos da agricultura, disponibilizado pelo Governo Federal no Brasil.

OBJETIVO

Estudar o potencial de produção de biocombustíveis de segunda geração perante a disponibilidade de resíduos sólidos, e revisar formas práticas para a construção de modelos de biorrefinarias.

METODOLOGIA

Realizamos essa Revisão de Literatura por meio da pesquisa bibliográfica de artigos publicados no período de 2005 – 2017, utilizando a base de dados, NCBI, Diário Oficial da União, EMBRAPA e google scholar.

REVISÃO

Um dos maiores desafios do século XXI tem sido oferecer novas fontes de energia para o transporte e para os processos industriais, além de prover matéria-prima para a indústria química de maneira sustentável (Saini, Saini e Tewari, 2015). Assim, satisfazer o aumento da demanda de energia de forma proporcional ao aumento populacional, ao que é requisitado pelas atividades econômicas, representa, atualmente, um enorme desafio (Debez *et al.*, 2017)

Hoje, a demanda mundial de energia primária é de cerca de 12,7 bilhões de toneladas de petróleo, e espera-se que em 2035 haja um aumento de cerca de 16-47%, ou seja, 14,8 bilhões de toneladas, com os combustíveis fósseis participando de cerca de 80% dessa estimativa mundial. Isso por que os progressos com o desenvolvimento industrial e urbano, ou seja, o aumento do padrão de vida e o crescimento da população, esse, estimado em 25%, nos próximos 20 anos, estão sendo contabilizados como alcançados, numa base estatística (Eyidogan *et al.*, 2016).

Por isso, conforme o já previsto, há muitos anos, o eventual e o inevitável esgotamento dessas reservas acontecerá, embora novas reservas continuem a ser descobertas. Desse modo, os biocombustíveis representam uma oportunidade de ampliar a era do petróleo, assim como o uso de seus produtos derivados (Westbrook, 2013).

Logo, o uso dessas fontes contribui para o crescente interesse em pesquisas sobre eles; ou seja, não só o seu uso no prolongamento do tempo de uso do petróleo. Uma vez que, o aumento constante dos preços dos derivados não-renováveis, aumenta o desejo dos países por uma segurança energética, que pode ou não envolver questões geopolíticas, ou mesmo as mudanças climáticas aos quais são atribuídas a sua queima. Desse modo, esses fatores vêm conduzindo à criação de uma bioeconomia mundial baseada no desenvolvimento de produtos sustentáveis (Flagfeldt *et al.*, 2009; Westbrook, 2013).

Durante a crise do petróleo entre 1973-1979 pode-se verificar isso devido as altas nos preços mundiais. E ressurgiu no início dos anos 2000 com outras preocupações como a mudança climática, a segurança no fornecimento energético e a volatilidade dos preços. Mediante a esses fatores, alguns programas de suporte foram criados, como o Proálcool, no Brasil; ou mesmo metas foram estabelecidas pela União Europeia, com investimentos nessas áreas (A e Timilsina, 2014).

Portanto, os resíduos agroindustriais e florestais, subprodutos de importantes atividades econômicas, destacam-se como fontes de matérias-primas potenciais para a produção de combustíveis renováveis, produtos químicos e energia. Em grande parte, por a utilização desses resíduos ser vantajosa, uma vez que a sua disponibilidade não é dificultada pela exigência de terras aráveis para produzir alimentos ou rações. O que os levam a estarem presentes no arauto dos

produtos inovadores, já que os seus negócios podem ser bastante disputados comercialmente, devido as suas características ambientais, sociais e econômicas aceitáveis. Um ponto interessante, por exemplo, são os grandes benefícios sociais que podem ser gerados, como a geração de empregos durante o ano todo, isto é, uma alternativa aos típicos empregos sazonais na agroindústria (Ferreira-Leitao *et al.*, 2010).

Um contraponto é que discute-se que eles possam exercer uma pressão sobre a segurança alimentar, ou o seu desenvolvimento estar, hoje, em estagnação; porém sabe-se que o seu desenvolvimento limitado e sustentável poderia, sim, desempenhar um papel no cumprimento de um combustível limpo para o transporte no futuro (A e Timilsina, 2014). E, por isso, nesse panorama entra as tecnologias de segunda geração aos quais podem ser usadas para a produção desses biocombustíveis, a partir de fontes lignocelulósicas ou simplesmente biomassa (Rutz e Rainer, 2007).

A lignocelulose, que é o biopolímero mais abundante presente na Terra, e refere-se ao material vegetal encontrado na parede celular das plantas, composto por um complexo heterogêneo de celulose, hemicelulose, lignina e outros polímeros estruturais parece ser um dos produtos disponíveis de maior rentabilidade (Mathews, Pawlak e Grunden, 2015). Pois, ela possui uma produção mundial de biomassa vegetal de cerca de 200×10^9 toneladas ao ano, e, verifica-se que a lignocelulose representa 90% dessa biomassa (Saini *et al.*, 2015; Sinigani, Emtiazi, Hajrasuliha, & Shariatmadari, 2005).

Para demonstrar esse montante, segundo os dados de (Bento e Casaril, 2012), em 2012 no Brasil a produção agrícola teve a sua produtividade ao redor de 180 milhões de toneladas de grãos, gerando cerca de $1,06 \times 10^{10}$ toneladas de resíduos com composição a base de lignocelulose. Dessa safra de grãos, estima-se que, em média, de 20% a 30%, das frutas e hortaliças colhidas no Brasil, sejam desperdiçados no caminho entre o consumidor e a lavoura. Outro resíduo comum são as palhas dos cereais que contribuem para o aumento da quantidade de resíduos, já que se acumulam e se deterioram, gerando a perda de resíduos que poderiam ter utilidade na produção de diversas substâncias químicas.

Esses resíduos produzidos constituem um grande problema ao meio ambiente, pois esses materiais, na maioria das vezes, permanecem nos locais onde são produzidos ou são lançados em locais inapropriados para o descarte; onde se decompõem, produzem gases de efeito estufa e contaminam o solo e a água (Bento e Casaril, 2012). Ao invés de oferecer uma oportunidade para que pequenos e grandes produtores gerem uma renda extra, através do seu uso como uma fonte barata de biocombustível, e, conseqüentemente, contribua para a redução dos resíduos gerados na agricultura (Saini, Saini e Tewari, 2015).

Portanto, uma das formas de prevenir a degradação ambiental ocasionada pelo manejo inadequado desses subprodutos seria a implantação do Plano de Gerenciamento de Resíduos Sólidos (PGRS) que segundo o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), na Resolução nº 05/1993 prevê o incentivo ao aproveitamento energético dos resíduos agrosilvopastoris através de tratamento (combustão ou biodigestão) individual ou consorciado; a criação de fundos de investimento que visem a implementação de projetos eco-eficientes na produção, e agroindústrias primárias associadas ao setor agrosilvopastoril, buscando a minimização da geração de resíduo e manejo adequado dos mesmos; a elaboração de políticas que subsidiem o manejo florestal,

indicando a necessidade do plano de manejo dos resíduos que sobram no campo (Brasil, 2011; Ferreira, [s.d.]).

Logo, a celulose, contida na biomassa deles, e ao qual forma um esqueleto cercado por hemicelulose e lignina em que as duas últimas funcionam como materiais matriciais e incrustantes, respectivamente; ela poderia ser utilizada na produção do etanol de segunda geração. De modo que esses resíduos devam passar por um processo de bioconversão, que consistiria em várias etapas, incluindo o pré-tratamento da biomassa, a hidrólise enzimática e a recuperação do produto. Porém, o principal desafio desse processamento está no pré-tratamento da matéria-prima; pois, durante esse processo, por a matriz de celulose e a lignina estarem ligadas por hemicelulose, essa ligação deve ser quebrada para reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a fração amorfa que é a mais adequada para o ataque enzimático (Saini, Saini e Tewari, 2015).

Logo, a lignina que é um fator importante que afeta as características agrícolas, isto é, a produção de biocombustíveis. É um produto importante a passar pelo pré-tratamento, e o seu melhoramento é necessário para a melhoria da digestibilidade da celulose. Uma vez que, o tipo e a quantidade da lignina diferenciam-se entre as espécies de plantas; a exemplo das gramíneas que possuem cerca de 20% da parede celular contendo lignina. Além da dependência do tipo de célula onde irá se desenvolver o processo de lignificação; ou mesmo de componentes estressores (Yoon, Choi e An, 2015).

Embora as pesquisas iniciais sobre a lignina tenham sido fundamentalmente concentradas na conversão dela em outros produtos, e não no melhoramento do seu rendimento na produção de biocombustíveis; algumas pesquisas vêm mudando esse paradigma. De uma forma que, esforços na pesquisa e na comercialização de etanol celulósico têm impulsionado importantes desenvolvimentos: 1) bioengenharia da lignina para reduzir a recalcitrância das paredes celulares e facilitar a recuperação e a conversão 2) avanços em química analítica e modelagem computacional para o desenvolvimento da lignina com propriedades físicas e químicas específicas 3) tecnologias de pré-tratamento da biomassa que facilitem a recuperação da lignina junto a modificações catalíticas personalizadas (Ragauskas *et al.*, 2014).

Alicerçado a esses esforços, a competição à nível de preço é alta, logo a obtenção máxima de subprodutos no processamento da biomassa, parece ser, hoje, a abordagem necessária para melhorar a viabilidade econômica do bioetanol celulósico, cuja produção atual tem altos custos (Devappa, Rakshit e Dekker, 2015). Um ponto relevante é que, a exemplo da lignina, as biorrefinarias podem vir a ser a etapa cíclica necessária para a produção, por exemplo, de fibras de carbono para veículos leves, que no entanto até a data da publicação de (Ragauskas *et al.*, 2014) essas fibras não exibiam boas propriedades mecânicas para o seu uso.

Em relação às biorrefinarias, elas atuam de maneira sustentável nesse âmbito, tendo como conceito o “mínimo a ser desperdiçado” para sairmos de uma economia linear para uma economia circular obrigatória, baseada no desenvolvimento sustentável (Venkata Mohan *et al.*, 2016). O que apesar de parecer futurista e distante, mostra-se que de acordo com um relatório divulgado até a divulgação do artigo (Liu e Shonnard, 2014) os biocombustíveis do transporte nos EUA terão como fontes, no futuro, principalmente, o uso de resíduos agrícolas e florestais.

Portanto, como demonstrado no (EMBRAPA Agroenergia, 2011), o conceito de biorrefinarias ainda é dinâmico e permanece em desenvolvimento. E, por não existirem modelos delas, o seu conceito ainda permanece em aberto. Por isso, pensar numa integração entre a política

de gerenciamento de resíduos sólidos e o desenvolvimento de novas tecnologias que proporcionem um maior rendimento com a biotransformação da biomassa, através do melhoramento de subprodutos como o que ocorre com a lignina, não é tão difícil.

O que faz com que possamos abrir novos horizontes e sair da relação de uma via única já conhecida entre as enzimas responsáveis pela degradação da celulose, e a sua descoberta ocorreu em 1976 por Reese, para uma fase do conhecimento, mais ampla, determinando outras formas de aumentar o rendimento e os custos, para tornar o etanol mais competitivo frente aos produtos não-renováveis (Saini, Saini e Tewari, 2015).

CONCLUSÃO

Os resíduos sólidos estão largamente disponíveis, o que pode garantir a sua utilização em novas tecnologias, como o etanol de segunda geração. Assim, a utilização dessas tecnologias, aliada a planos de gerenciamento de resíduos podem fornecer uma base para a geração de modelos de biorrefinarias para suprir a demanda do crescimento populacional nos próximos anos. E competir diretamente com os preços dos derivados do petróleo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A, P. T. R. S.; TIMILSINA, G. R. Biofuels in the long-run global energy supply mix for transportation. n. December 2013, 2014.

BENTO, C.; CASARIL, K. Agroindustriais Ligninocelulósicos Por Fungos Causadores Da Podridão Branca : Uma Alternativa À Produção. **E-revista UNIOESTE**, v. 14, p. 151–180, 2012.

BRASIL. Plano Nacional de Resíduos Sólidos (Lei no 12.305/2010). **Brasília: Diário Oficial da União**, p. 103, 2011.

DEBEZ, A.; BELGHITH, I.; FRIESEN, J.; MONTZKA, C.; ELLEUCHE, S. Facing the challenge of sustainable bioenergy production: Could halophytes be part of the solution? **Journal of Biological Engineering**, v. 11, n. 1, p. 1–19, 2017.

DEVAPPA, R. K.; RAKSHIT, S. K.; DEKKER, R. F. H. Forest biorefinery: Potential of poplar phytochemicals as value-added co-products. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 681–716, 2015.

EMBRAPA AGROENERGIA. Biorrefinarias. p. 1–6, 2011.

EYIDOGAN, M.; CANKA KILIC, F.; KAYA, D.; COBAN, V.; CAGMAN, S. Investigation of Organic Rankine Cycle (ORC) technologies in Turkey from the technical and economic point of view. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 885–895, 2016.

FERREIRA-LEITAO, V.; GOTTSCHALK, L. M. F.; FERRARA, M. A.; NEPOMUCENO, A. L.; MOLINARI, H. B. C.; BON, E. P. S. Biomass residues in Brazil: Availability and potential uses. **Waste and Biomass Valorization**, v. 1, n. 1, p. 65–76, 2010.

FERREIRA, M. Plano de Gerenciamento de Resíduos Aplicado em uma Agroindústria Canavieira. [s.d.].

FLAGFELDT, D. B.; SIEWERS, V.; HUANG, L.; NIELSEN, J. Characterization of chromosomal integration sites for heterologous gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast (Chichester, England)**, v. 26, n. 10, p. 545–551, 2009.

LIU, J.; SHONNARD, D. R. Life cycle carbon footprint of ethanol and potassium acetate produced from a forest product wastewater stream by a co-located biorefinery. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 2, n. 8, p. 1951–1958, 2014.

MATHEWS, S. L.; PAWLAK, J.; GRUNDEN, A. M. Bacterial biodegradation and bioconversion of industrial lignocellulosic streams. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 7, p. 2939–2954, 2015.

RAGAUSKAS, A. J. *et al.* Lignin valorization: Improving lignin processing in the biorefinery. **Science**, v. 344, n. 6185, 2014.

RUTZ, D.; RAINER, J. *Technology Handbook*. p. 1–149, 2007.

SAINI, J. K.; SAINI, R.; TEWARI, L. Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. **3 Biotech**, v. 5, n. 4, p. 337–353, 2015.

SINEGANI, A. A. S.; EMTIAZI, G.; HAJRASULIHA, S.; SHARIATMADARI, H. Biodegradation of some agricultural residues by fungi in agitated submerged cultures. v. 4, n. 10, p. 1058–1061, 2005.

VENKATA MOHAN, S.; NIKHIL, G. N.; CHIRANJEEVI, P.; NAGENDRANATHA REDDY, C.; ROHIT, M. V.; KUMAR, A. N.; SARKAR, O. Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: Critical review and future perspectives. **Bioresource Technology**, v. 215, p. 2–12, 2016.

WESTBROOK, C. K. Biofuels Combustion. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 201–219, 2013.

YOON, J.; CHOI, H.; AN, G. Roles of lignin biosynthesis and regulatory genes in plant development. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 57, n. 11, p. 902–912, 2015.

EFEITOS DO TRATAMENTO COM EXTRATOS DA *Ramalina aspera* RÄSÄNEN NAS MICROESTRUTURAS ESPLÊNICAS DE CAMUDONGOS

Lucas Felipe de Melo Alcântara¹; Jeanderson Marcelino da Silva ¹; Maria Aparecida da Conceição de Lira²; Isla Vanessa Gomes Alves Bastos³, Tatiane Bezerra de Oliveira³, Teresinha Gonçalves da Silva³, Emerson Peter da Silva Falcão²; Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior⁴.

1-Licenciando em Ciências Biológicas; 2-Laboratório de Síntese de Fármacos e Isolamento Molecular/UFPE-CAV; 3-Laboratório de Prospecção Farmacotóxica de Produtos Bioativos, Departamento de Antibióticos – UFPE; Professor Associado I na UFPE-CAV⁴.

E-mail: lalcantara102@gmail.com

RESUMO:

Introdução. Com intuito de avaliar os impactos tóxicos de novas substâncias naturais no organismo como aquelas encontradas nos extratos liquênicos, utiliza-se o baço como indicador para estes. **Objetivo.** Avaliar através da histomorfometria a ação dos extratos etéreo, clorofórmico, acetônico e ácido divaricático do líquen *Ramalina aspera* RÄSÄNEN no baço de camundongos. **Metodologia.** Foram utilizados camundongos albinos swiss (*Mus musculos*), com idade de 45 dias (25-35g). Para a avaliação da toxicidade foi utilizado a metodologia recomendada pela OECD, 2001. O teste constituiu na administração da dose de 2000 mg.kg⁻¹ via oral dos compostos liquênicos: ácido divaricático, extrato acetônico, extrato clorofórmico, extrato etéreo e o grupo controle negativo recebeu apenas solução salina. Após a administração, os animais foram observados continuamente nas primeiras duas horas e depois a cada 24 horas diariamente durante 14 dias. Fixou-se o baço em formaldeído a 10% neutro tamponado e em seguida, submetido ao processamento histológico de rotina. Houve a obtenção de 20 fotomicrografias de cada lâmina. Fez-se a histomorfometria para determinação da área da polpa branca, estroma e polpa vermelha. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste t de Student, sendo adotado nível de significância de $p < 0,05$. **Resultados e discussão.** Verificou-se aumento da área da polpa branca em todos os grupos tratados com extrato liquênico quando comparado com o grupo controle. Observou-se redução da área da polpa vermelha e diminuição do estroma. **Conclusão.** As substâncias liquênicas apresentaram dano esplênico.

Palavras-Chave: Líquen; *Romalina aspera* Räsänen; Ácido Divaricático; Baço; Camundongo.

INTRODUÇÃO

O baço é um bom indicador de toxicidade e o principal órgão do sistema imunológico, por apresentar uma maior massa individual de tecido linfático que está relacionada à remoção de eritrócitos e plaquetas defeituosas além de atuar na destruição de patógenos transportados pelo sangue (ZHANG, 2001).

Os líquens são organismos constituídos por uma relação simbiótica entre fungos e algas (NASH, 1996). Essa associação produz diversos metabólitos secundários de natureza fenólica com múltiplas propriedades biológicas, entre elas a ação farmacológica. Os líquens produzem uma

grande variedade de substâncias bioativas com propriedades biológicas tais como, atividade antimicrobiana (Falcão et al., 2004), citotóxica (Brandão et al., 2013), antioxidante (Sahin et al., 2015), antitumoral (Zugic et al., 2016), anti-inflamatória (Choudhary et al., 2005).

Diante da necessidade de encontrar novas substâncias naturais capazes de limitar a toxidez esplênica no organismo e tendo em vista que os compostos liquênicos têm se mostrado agentes promissores para este fim, este trabalho descreve uma avaliação da toxicidade esplênica de extratos dessa espécie e do ácido divaricático, seu composto majoritário.

OBJETIVO

Avaliar através da histomorfometria a ação dos extratos etéreo, clorofórmico, acetônico e do ácido divaricático do líquen *Ramalina aspera* RÄSÄNEN no baço de camundongos.

METODOLOGIA

A Coleta do material liquênico *Ramalina aspera* foi realizada em Limoeiro (PE) e acondicionado em caixa de papelão à temperatura ambiente no laboratório. Foram pesados 40g do líquen macerado. A extração foi realizada por esgotamento a quente em aparelho de Soxhlet, seguindo a série eluotrópica dos solventes éter etílico, clorofórmio e acetona. Foram utilizados 200 mL de cada solvente à temperatura refluxo. Em seguida os solventes foram evaporados em rotaevaporador em temperatura de ebulição para cada solvente. Para o isolamento do ácido divaricático, seguiu-se o método seguido por Asahina e Shibata (1954).

Para o estudo experimental foram utilizados 30 camundongos albinos swiss (*Mus musculos*), com idade de 45 dias (25-35g). Os protocolos de experimentação foram aprovados pela Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE (nº 23076.049165/2015-96). Os animais foram mantidos de acordo com as normas proposta pelo Conselho de Laboratório de Animais Experimentais e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals.

Para a avaliação da toxicidade foi utilizado a metodologia recomendada pela OECD, 2001. O teste constituiu na administração da dose de 2000 mg.kg⁻¹ via oral dos compostos liquênicos: ácido divaricático, extrato acetônico, extrato clorofórmico, extrato etéreo e o grupo controle negativo, recebeu apenas solução salina + tween 80 a 5 %. Após a administração, os animais foram observados continuamente nas primeiras duas horas e depois a cada 24 horas diariamente durante 14 dias.

No último dia foi realizado a eutanásia dos animais, coleta de sangue para análise hematológica e bioquímica, e uma incisura na cavidade abdominal para coleta do baço. Posteriormente, fez-se a fixação em formaldeído a 10% neutro tamponado e assim, os órgãos foram submetidos ao processamento histológico de rotina. Foi feito a inclusão em bloco de parafina para a realização de cortes de 4 µm e em seguida ao processo de coloração com Hematoxilina e Eosina (H.E.). Utilizou-se uma câmera digital adaptada ao microscópio de luz, para obtenção de 20 fotomicrografias de cada lâmina com a objetiva de 10x. Com o auxílio do programa ImageJ versão 1.50, realizou-se a histomorfometria para determinação da área da polpa branca, estroma e polpa vermelha. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste Mann-Whitney, sendo adotado nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Verificou-se nas análises hematológicas que a quantidade de leucócitos, hemácias, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, VCM, HCM e CHCM não apresentaram diferenças significativas em relação a quantidade dos mesmos no grupo controle. Na análise bioquímica observou-se a queda no nível de ureia dos animais tratados em relação ao controle. Em relação a quantidade de creatinina no sangue dos animais não houve diferença significativa entre o controle e os grupos tratados, tabela 1.

E no baço observou-se diminuição do estroma e da polpa vermelha e um aumento da polpa branca dos grupos tratados em relação ao controle. Resultados na tabela 2. Em relação ao peso do órgão analisado, foi verificado um aumento do baço nos grupos tratados com os extratos etéreo e acetônico.

Tabela 1- Análises hematológica e bioquímica de camundongos tratados com os extratos de *R. aspera* e ácido divaricático.

	Diniz et al., 2006	CN	AD	EE	EC	EA
Leucócitos (10^3 /mm³)	7,97±0,97	4,3±1,07	4,02±0,49	4,18±0,62	3,84±0,79	4,68±1,98
Hemácias (10^6 /mm³)	8,65±0,33	8,7±0,43	8,45±0,78	8,3±0,56	8,19±0,51	8,45±0,37
Hemoglobina (g/dl)	13,5±0,3	12,6±0,74	11,8±0,75	12,2±1,18	12,1±0,79	12±0,62
Hematócrito (%)	41,6±1,23	45,5±3,1	42,6±4,11	43,2±3,46	43±2,37	43,6±1,9
Plaquetas (10^3 /mm³)	450±69,5	897±3,14	908±47,2*	873±51,9*	845±80,3*	914±66,2*
VCM (μ^3)	48,2±0,95	52,1±1,60	50,1±1,47	51,8±0,83	52,6±1,51	51,5±1,97
HCM ($\mu\mu^3$)	15,7±0,87	14,5±0,75	14±0,52	14,7±0,63	14,8±0,62	14,2±0,73
CHCM (%)	32,4±0,37	27,8±1,17	27,8±1,27	28,4±0,78	28,2±1,71	27,5±1,38
Ureia (mg/dl)	53±1,93	49,6±2,88	41,7±4,9	33±3,46	43,5±1,15	43±11,7*
Creatinina (mg/dl)	0,3±0,02	0,26±0,05	0,26±0,10	0,25±0,05	0,12±0,04	0,23±0,1

Dados expressos em média ± DP. (N=6); $P < 0,05$ v.s CN. * Não significativo vs CN. CN= Controle negativo – Sanila + tween 80 a 5 %; CN = controle negativo; AD = ácido divaricático; EE = extrato etéreo; EC = extrato clorofórmico e EA = extrato acetônico

Amostras	Baço				Tabela 2- Análise
	Estroma	Polpa vermelha	Polpa branca	Peso	
Extr. Etéreo	3,70±1,43	48,64±13,12	47,65±13,40	0,27±0,06	
Extr. Clorofórmio	4,59±2,85	45,64±2,89	49,87±13,60	0,20±0,04*	
Extr. Acetônico	3,72±1,80	34,50±15,17	61,97±15,25	0,25±0,06	
Ácido Divaricático	3,81±2,38	47,93±14,13	48,29±14,85	0,20±0,03	
Controle Negativo	4,83±2,45	53,80±15,14	41,41±15,83	0,22±0,03	

histomorfométrica e peso do baço de camundongos exposto aos extratos de *R. aspera* e do ácido divaricático.

Teste de Mann-Whitney. Dados expressos em média ± DP. (N=6); $P < 0,05$ v.s. Controle. * Não significativo vs controle. CN=Controle negativo – Sanila + tween 80 a 5 %.

CONCLUSÃO

O procedimento de extração e as técnicas de recristalização utilizados foram adequados para a obtenção do ácido divaricático e dos extratos orgânicos obtidos a partir do líquen *Ramalina aspera* Räsänen, apresentando rendimentos satisfatórios e alto nível de pureza. Os extratos da *R. aspera* e ácido divaricático causaram aumento na área da polpa branca, conseqüente diminuição na área da polpa vermelha e redução na região do estroma. Desta forma, as substâncias líquênicas apresentaram danos ao órgão analisado.

REFERÊNCIAS

- ASAHINA, Y., SHIBATA, S., 1954. **Chemistry of Lichen Substances**. Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo.
- BRANDÃO, L. F. G., et al. Cytotoxic Evaluation of Phenolic Compounds from Lichens against Melanoma Cells. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 2, p. 176–183, 2013.
- CHOUDHARY, M. I., et al. Bioactive phenolic compounds from a medicinal lichen, *Usnea longissimi*. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2346–2350, 2005.
- OECD. Organization for Economic Cooperation and Development. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic – Acute Toxic Class Method. Guideline for the Testig of Chemicals.
- FALCÃO, E. P. S., et al. Atividade antimicrobiana de derivados fenólicos do líquen *Ramalina sorediosa* (B. de Lesd.) Laundron¹. **Acta Botânica Brasil**. v. 18, p. 911-918, 2004.
- MOURA, M. C. G. G. **Atividade antimicrobiana de compostos de Canoparmelia texana (Tuck.) Elix & Hale (Líquén)**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2008.
- RUSSO, A., et al. Effect of vicanicin and protolichesterinic acid on human prostate cancer cells: Role of Hsp70 protein. **Chemico-Biological Interactions**, v. 195, p. 1 – 10, 2012.
- SAHIN, S., et al. *Ramalina* Lichens and their Major Metabolites as Possible Natural Antioxidant and Antimicrobial Agents. **Journal of Food Biochemistry**, v. 39, 471–477, 2015.
- ZHANG, SX. Atlas de histologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.152-157.
- ZUGIC, A., et al. Evaluation of Anticancer and Antioxidant Activity of a Commercially Available CO₂ Supercritical Extract of Old Man’s Beard (*Usnea barbata*). **Plos One**, p. 1-14, 2016.

SÉRIE TEMPORAL DE MORTALIDADE POR CÂNCER COLORRETAL NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL: 2000 A 2016

Karolayne Silva Souza¹, Milena Roberta Freire da Silva¹, Flávia Steffany Leite Miranda¹, Rafaell Batista Pereira² Kátia C. da Silva Félix²

Bacharelado em Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro – FASETE¹

Departamento de Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro – FASETE²

RESUMO

Introdução: O câncer colorretal (CCR) é um dos cânceres mais comuns que acometem homens e mulheres mundialmente. No Brasil há uma estimativa para o ano de 2018 com cerca de 36.360 novos casos sejam diagnosticados, tendo um maior número de pessoas do sexo feminino. **Objetivo:** Avaliar a tendência de mortalidade por CCR na região Nordeste do Brasil, no período de 2000 a 2016. **Metodologia:** É um estudo quantitativo, ecológico e retrospectivo de uma série temporal, em que se baseia em dados secundários coletados através do Sistema Informação de Mortalidade (SIM) e do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS). Analisou-se dados de mortalidade por CCR na região Nordeste do Brasil, no período de 2000 a 2016, utilizando a 10ª revisão da versão brasileira da Classificação Internacional de Doenças: 035. **Resultados:** Entre os anos de 2000 a 2016 houve cerca de 26.956 óbitos por CCR na região nordeste brasileira, apresentando uma tendência de mortalidade bruta significativa, com APC de 7,3% de óbitos anual. O aumento seria devido aos fatores de riscos relacionados a patologia como: dietas muito calóricas, idade >50 anos, sedentarismo, ingestão de álcool e tabagismo. **Conclusão:** O CCR mostrou uma crescente tendência de mortalidade em ambos os sexos na região nordeste brasileira no período analisado, sendo assim a monitoração precoce da doença e a adoção de hábitos de vida saudáveis são importantes para que se previna a doença.

Palavras – chave: Neoplasias Colorretais, mortalidade, câncer colorretal.

INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é uma neoplasia que acomete o segmento do intestino grosso (o cólon), o reto e o ânus (OLIVEIRA, 2013; INCA, 2018). É um dos tipos mais comuns de cânceres afetando homens e mulheres mundialmente, em 2008 foram estimados cerca de 608 mil óbitos por CCR no mundo (SHIN et al., 2013; XIN et al., 2014). No Brasil o CCR é o terceiro câncer mais frequente em homens e o segundo em mulheres, para 2018 estima-se cerca de 36.360 novos casos, dos quais 17.380 acometerão homens, enquanto 18.980 as mulheres (INCA, 2018). Alguns fatores de riscos podem contribuir para o desenvolvimento do CCR como: idade, histórico familiar de CCR, dietas baseadas em gorduras de animais, baixa ingestão de frutas, vegetais e cereais integrais; etilismo, tabagismo, obesidade, e o sedentarismo. (MENEZES et al. 2016).

O CCR geralmente não apresenta sintomatologia, porém são importantes os sinais e sintomas de alerta como alterações do hábito intestinal, dor abdominal, sangue oculto e alterações nas fezes, também pode-se observar a presença de muco nas fezes, anemia, tumor abdominal palpável, obstrução intestinal aguda, fístulas colônicas e peritonite fecal por perfuração intestinal, no entanto estes são os sintomas menos comuns, onde irá fazer parte do quadro clínico em que a doença se encontra (GOMES et al., 2013; MENEZES et al. 2016).

O diagnóstico do CCR é realizado principalmente por biópsia, já o acompanhamento da doença é feito através do exame físico, tomografias do tórax, abdômen e pelve, além da dosagem do antígeno carcinoembrionário. O tratamento para o CCR depende do estadiamento da doença, podendo ser quimioterápico, cirúrgico ou radioterápico (FERNANDES et al., 2011).

OBJETIVO

Diante do exposto, a elaboração de uma série temporal sobre tendência de mortalidade por CCR é de grande importância, pois segundo Medronho et al. (2009) as séries temporais podem ser utilizadas para prever tendências futuras ou avaliar o impacto de uma intervenção populacional, avaliando a evolução das taxas ao longo do tempo em uma determinada população geograficamente definida. Visto que o CCR é um câncer com uma elevada magnitude no mundo. Contudo o estudo teve como objetivo avaliar a tendência de mortalidade por CCR na região Nordeste do Brasil, no período de 2000 a 2016, em ambos os sexos somados e para cada sexo individualmente.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo quantitativo, ecológico, retrospectivo de uma série temporal, baseado em dados secundários coletados através do Sistema Informação de Mortalidade (SIM) e do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS). Foram analisados dados de mortalidade por CCR na região Nordeste do Brasil, no período de 2000 a 2016, sendo utilizado a 10ª revisão da versão brasileira da Classificação Internacional de Doenças (CID BR-10), para neoplasia maligna do cólon, reto e ânus: 035. Os dados sobre a população residente da região Nordeste do Brasil foram obtidos através do DATASUS dos anos de 2000 a 2016, segundo o sexo masculino e feminino, e baseado nos dados populacionais calculou-se a taxa de mortalidade por 100.000 habitantes.

Os dados foram analisados através do software *Joinpoint Regression Program do National Cancer Institute, USA* (versão 4.6.0.0), em que se pôde traçar uma tendência e identificar a ocorrência de mudanças recentes no número de óbitos por CCR, e assim permitir verificar a Variação Percentual Anual (APC), que indica o aumento ou diminuição por ano em porcentagem da tendência, bem como sua significância (p). O resultado positivo da APC representa o aumento na tendência de mortalidade e negativa diminuição, o nível de significância adotado alfa foi de 5%.

Este estudo segue as normas estabelecidas na Resolução nº.466/2012 e 510/2016 do Conselho Nacional de Ética, no qual os dados que foram utilizados na pesquisa são públicos e disponibilizados pelo site do DATASUS, não havendo a identificação dos indivíduos. Por essa razão, não foi necessário a aprovação de um Comitê de Ética em Pesquisa.

RESULTADOS

De 2000 a 2016 ocorreram cerca de 26.956 óbitos por CCR na região Nordeste do Brasil, sendo que do sexo masculino tiveram cerca de 11.947 (44%) óbitos e do sexo feminino tiveram cerca de 15.009 (56%) óbitos.

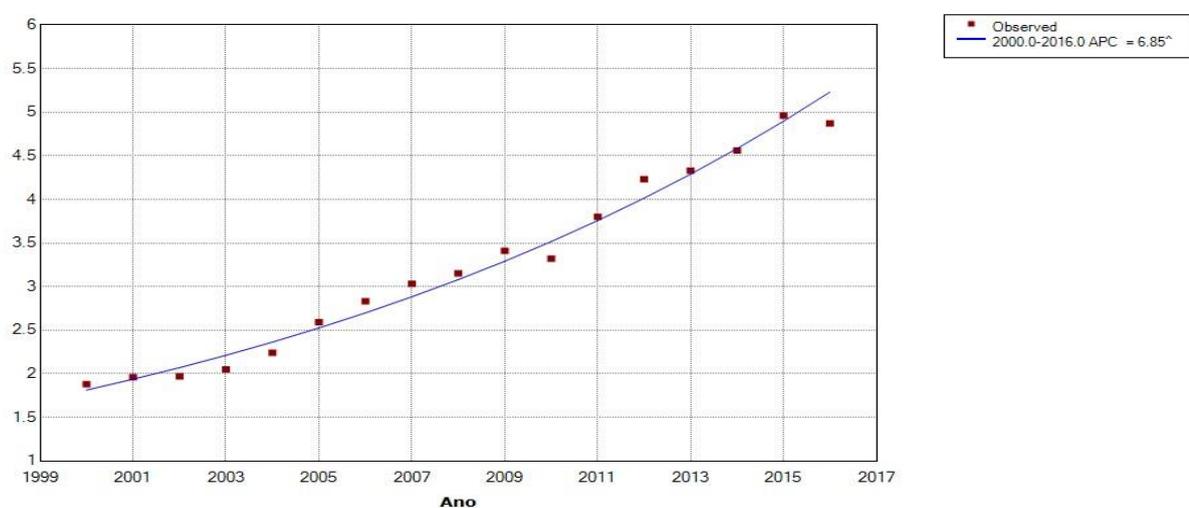
Na análise da taxa de mortalidade verificou-se que as taxas de mortalidade bruta variaram de 1,60 óbitos/100.000 habitantes em 2000 para 4,92 óbitos/100.000 habitantes em 2016. As taxas específicas de mortalidade por sexo apresentaram variações em ambos os sexos, em que no feminino houve uma variação de 1,81 óbitos/100.000 habitantes em 2000 para 4,92 óbitos/100.000 habitantes

em 2016, e no sexo masculino houve uma variação de 1,36 óbitos/100.000 habitantes em 2000 para 4,61 óbitos/100.000 habitantes em 2016.

A partir da análise dos dados submetidos no software *Joinpoint Regression Program*, verificou que na tendência de mortalidade bruta (ambos os sexos combinados) no período de 2000 a 2016, houve um aumento significativo de 7,3% ao ano, demonstrando um acréscimo no número de óbitos. Já a tendência de mortalidade por taxa específica para cada sexo também se verificou um aumento significativo no APC para ambos os sexos, tendo o sexo feminino um aumento de 6,8% ao ano e o sexo masculino um aumento de 7,9% ao ano (Tabela 1).

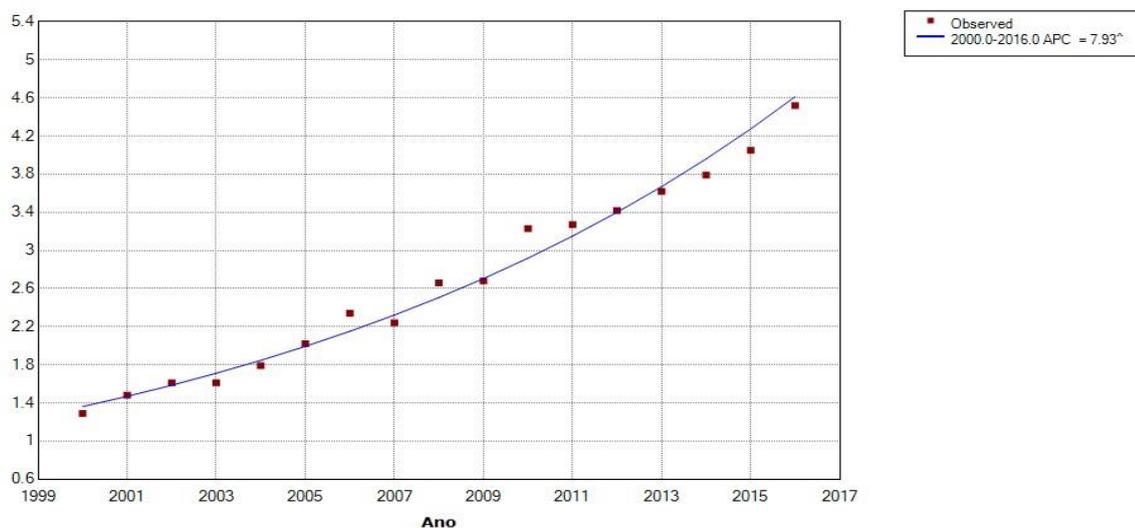
Os dados dos gráficos foram gerados em forma de figuras, com resultados de tendência de mortalidade específica feminina (Figura 1) e masculina (Figura 2) no período de 2000 a 2016.

Figura 1 – Tendência de mortalidade específica feminina por CCR no período de 2000 a 2016.



^ Indica que a Variação de porcentagem anual (APC) é significativamente diferente de zero no nível alfa = 0,05.

Figura 2 – Tendência de mortalidade específica masculina por CCR no período de 2000 a 2016.



^ Indica que a Variação de porcentagem anual (APC) é significativamente diferente de zero no nível alfa = 0,05.

Tabela 1 – Tendência de mortalidade bruta e específica por sexo por CCR na região Nordeste do Brasil no período de 2000 a 2016.

TENDÊNCIA DE MORTALIDADE	PERÍODO/PONTO DE INFLEXÃO (APC)	IC (95%)	APC (%)	SIGNIFICÂNCIA (P) ¹	TENDÊNCIA
Bruta	2000 - 2016	6,9 – 7,7	7,3	0,01	Crescente
Específica Feminina	2000 - 2016	6,3 - 7,4	6,8	0,01	Crescente
Específica Masculina		7,4 – 8,5	7,9	0,01	

A provável explicação para o aumento nas taxas de mortalidade pelo CCR pode estar relacionada com os fatores de riscos associados a essa patologia como: dietas com alto teor calórico, consumo excessivo de carnes vermelhas, idade superior a 50 anos na qual o CCR é mais expressivo. (VASQUES et al., 2010; MENEZES et al. 2016). A taxa de mortalidade se apresentou mais elevada no sexo feminino em relação ao sexo masculino, sugerindo que a progressão do CCR nas mulheres é fortemente influenciável e acelerada, e que essa progressão da doença esteja rápida em mulheres pós-menopausa que não fazem uso de reposição hormonal, pois o estrógeno demonstra ter um efeito protetor na formação do CCR (ZANDONÁ et al., 2011). Entretanto, mesmo o sexo feminino demonstrando uma taxa de mortalidade alta por CCR, o sexo masculino ainda assim apresentou uma tendência de mortalidade elevada comparado ao sexo feminino, podendo estar relacionado principalmente por seus hábitos de vida não saudáveis, assim como sua prevalência em excesso de peso e a obesidade (MALTA et al., 2014), que claro são fatores de risco principais que levam o indivíduo a ser acometido pela doença (MENEZES et al., 2016).

CONCLUSÃO

O CCR na região nordeste brasileira no período analisado (2000 a 2016), demonstrou um aumento na tendência de mortalidade para os sexos masculino, feminino e ambos os sexos. O grupo que se mostrou maior tendência de mortalidade foi o sexo masculino, no entanto o ~~sexo~~ feminino demonstrou-se elevado em relação a taxa de mortalidade comparado ao sexo masculino. Portanto, com a demonstração do crescente número de óbitos pelo CCR, considera-se haver um rastreamento mais contínuo e diagnósticos precoces afim de evitar o acometimento pela doença e seu tratamento seja adequado a gravidade da doença, como também a adoção de hábitos de vida saudáveis.

REFERÊNCIAS

FERNANDES,AS Jr et al. **Sociedade Brasileira de Cancerologia. Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar. Câncer de Cólon: Tratamento quimioterápico.** Associação Médica Brasileira, Agência Nacional de Saúde Suplementar. 2011.

GOLDANI, MZ et al. **O impacto da transição demográfica epidemiológica na saúde da criança e do adolescente do Brasil.** Rev HCPA. v. 49, n. 1, 2012.

GOMES, CIMR et al. **Estudo sobre a acurácia da colonoscopia na detecção do câncer colorretal.** Ver Méd Minas Gerais. v. 23, n. 3, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Estimativas de População Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais. 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER(INCA). Estimativa 2016. Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2016.

MALTA, D.C. et al. **Evolução anual da prevalência de excesso de peso e obesidade em adultos nas capitais dos 26 estados brasileiros e no distrito federal entre 2006 e 2012.** RevBrasEpidemiolSupplPense, 2014.

MEDRONHO, R. A. et al. Epidemiologia. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2009.

MENEZES, Camila Costa Santos de. et al. **Câncer colorretal na população brasileira: taxa de mortalidade no período de 2005-2015.** RevBrasPromoç Saúde, Fortaleza, v. 29, n. 2. 2016.

OLIVEIRA TR et al. **Hábitos alimentares de pacientes com câncer colorretal.** J Health Sci Inst. v. 31, n. 1, 2013.

SHIN A, et al. **Colorectal cancer mortality in Hong Kong of China, Japan, South Korea, and Singapore.** World J Gastroenterol. v. 19, n. 7, 2013.

VASQUES, ALRet al. **Tendência temporal da mortalidade por câncer de cólon e reto em Santa Catarina no período entre 1980 a 2006.** EpidemiolServSaúde. v. 19, n. 2, 2010.

XIN,KP et al. **Colorectal cancer mortality in Inner Mongolia between 2008 and 2012.** World J Gastroenterol.v. 20, n. 25, 2014.

ZANDONÁ, Bianca. **Prevalência de adenomas colorretais em pacientes com história familiar para câncer colorretal.** RevbrasColoproct, 2011.

FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE PLANTAS DA CAATINGA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Matheus de Jesus Sá Silva¹, Virginia Michelle Svedese².

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco, Graduando em Ciências Biológicas (UNIVASF).

²Universidade Federal do Vale do São Francisco, Docente do curso de Ciências Biológicas (UNIVASF).

RESUMO

Introdução: os fungos endofíticos possuem a capacidade de crescer internamente nos tecidos vegetais, sem causar sintomas de danos teciduais à planta hospedeira e são universais nas espécies de plantas vasculares. Uma rica fonte de novos produtos naturais e propriedades bioativas são encontradas e bem representadas nos fungos endofíticos, contudo pouco se sabe sobre os endófitos de plantas da caatinga. **Objetivo:** Realizar um levantamento bibliográfico sobre fungos endofíticos encontrados em plantas da caatinga. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão da literatura baseada em artigos científicos publicados em diferentes plataformas eletrônicas consultando artigos em inglês e português. **Revisão:** Uma grande diversidade de fungos endofíticos, cerca de 54 espécies fúngicas, encontradas em 10 tipos de espécies de plantas da caatinga, foram descritas em apenas 6 artigos encontrados em nosso levantamento bibliográfico com base nas palavras-chaves utilizadas na pesquisa. **Conclusão:** Observamos que os fungos endofíticos tem uma grande importância biotecnológica para os diversos segmentos dos setores industriais, que necessita de maiores estudos, o atual levantamento mostra o quão escasso são as pesquisas relacionadas a diversidades de espécies fúngicas em vegetais na caatinga.

Palavras-chaves: diversidade; endófitos; semiárido;

INTRODUÇÃO

A grande maioria das plantas terrestres tem capacidade de realizar interações com diversos fungos endofíticos, sendo que esses, em algum momento do seu ciclo reprodutivo irá realizar a colonização dos tecidos vegetais sendo caracterizados como simbioses comensais, os fungos endofíticos, além de trazer benefícios para os vegetais, eles também acabam atuando como patógenos, simbioses mutualistas. No entanto, a colonização das plantas por estes organismos está limitada as partes aéreas desses vegetais, mas suas raízes também podem ser colonizadas por um amplo espectro de fungos com funções potencialmente diversas como os fungos micorrízicos arbusculares (KNAPP et al., 2018).

Os fungos endofíticos possuem a capacidade de crescer internamente nos tecidos vegetais, sem causar sintomas de danos teciduais à planta hospedeira e são universais nas espécies de plantas vasculares. Hoje em dia, menos de 10% dos cerca de um milhão de fungos endofíticos conhecidos foram estudados. Entretanto, diversas plantas medicinais raras produzem metabolitos secundários com grande potencial biotecnológico farmacêutico que são de extrema importância para que aquele vegetal seja capaz de sobreviver naquele ambiente, e estas moléculas raramente foram isoladas e/ou caracterizadas (TAN et al., 2018).

Uma rica fonte de novos produtos naturais e propriedades bioativas são encontradas e bem representadas nos fungos endofíticos. Eles são encontrados em diversos habitats ecológicos, fazendo com que exista particularidades relacionadas aos seus metabólitos secundários, já que sua coevolução com os seus hospedeiros nos mais variados ambientes acabou por levar a interações metabólicas que acabam eventualmente por auxiliam os vegetais na sua adequação às mais diversificadas condições ambientes, além de servir como agente de controle biológico (PAMPHILE et al., 2017).

A diversidade de espécies fúngicas mostra seu ápice de produção de substâncias a depender de sua localização geográfica, considerando a relevância da Caatinga no meio ambiente, alguns autores têm se esforçado a entender a sua ecologia, distribuição geográfica, já que é de grande importância para a diversidade mundial, abrigando espécies endêmicas de fauna e flora (PIRES et al., 2015).

Dessa forma, considerando a Caatinga como importante e pouco explorada fonte de fungos endofíticos e o aumento da necessidade de novas fontes de moléculas ativas, este estudo teve o objetivo de realizar um levantamento bibliográfico acerca de isolados de fungos endofíticos encontrados em plantas da caatinga.

OBJETIVO

Realizar um levantamento bibliográfico sobre fungos endofíticos encontrados em plantas da caatinga.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão da literatura baseada em artigos científicos publicados em diferentes plataformas eletrônicas no período compreendido entre 2008 e 2018. Foram consultados artigos em inglês e português, referentes as palavras-chave: fungos; endofíticos; caatinga; endophytic; fungi. A busca foi realizada nas plataformas eletrônicas PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), GoogleScholar (<https://scholar.google.com.br>), Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>).

REVISÃO

Nos mais diversos ecossistemas os fungos têm um grande potencial, já que são responsáveis por diversos processos, tais como, decomposição, transporte de nutrientes. Em todo o planeta, se tem uma estimativa de que exista milhares de espécies fúngicas e que apenas cerca de 5%. Uma pequena fração, na qual está inserida os fungos endofíticos que apresentam uma grande diversidade dentre os ecossistemas. (CALDERANI, F. A. et al., 2018).

Dentre incontáveis ecossistemas que podemos citar, aqueles com maior diversidade são também os que têm fungos endofíticos em ampla quantidade e com superior diversidade, podemos relacionar a uma maior diversidade de biomoléculas com grande potencial (FERRARA, M. A. 2013). Podemos observar no Quadro 1 uma grande diversidade de fungos endofíticos, cerca de 54 espécies fúngicas, encontradas em 10 tipos de espécies de plantas da caatinga, uma diversidade bem considerável, em apenas 6 artigos encontrados em nosso levantamento bibliográfico com base nas palavras-chaves utilizadas na pesquisa.

Os fungos mais frequentemente encontrado nas plantas da Caatinga foram os gêneros *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp., ocorrendo em 3 e 2 espécies respectivamente. Dentre os fungos mais frequentes, podemos citar *Aspergillus flavus* que ocorreu apenas na planta *Hancornia Speciosa*,

sugerindo que pode ser hospedeiro específico. As relações ecológicas entre esses organismos ainda precisam ser melhor estudadas, especialmente entre as plantas da Caatinga.

Quadro 1. Fungos endofíticos presentes em plantas da Caatinga.

Planta	Fungo	Nº de Isolados	Referencia
<i>Opuntia ficus-indica</i>	<i>Acremonium curvulum</i>	1	FREIRE, K. T. L. S. et al., 2015.
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	
	<i>Chrysonilia sitophila</i>	2	
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	
	<i>Fusarium lateritium</i>	1	
	<i>Penicillium funiculosum</i>	2	
	<i>Phoma</i> sp.	1	
<i>Anadenanthera colubrina</i>	<i>Aspergillus niger</i>	5	CAVALCANTI, R. M. F. et al., 2017
<i>Anacardium occidentale</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	SOUZA et al., 2016
<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	<i>Trichoderma</i> sp.	109	
<i>A. fraxinifolium</i>			
<i>B. virgilioides</i>			
<i>C. pyramidalis</i>			
<i>Calotropis procera</i>	<i>Acremonium kiliense</i>		1
	<i>Acremonium strictum</i>	1	
	<i>Cercospora pulcherrima</i>	1	
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	
	<i>Cladosporium oxysporum</i>	1	
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	1	
	<i>Curvularia pallescens</i>	1	
	<i>Diplodina microsperma</i>	1	
	<i>Glomerella cingulata</i>	3	
	<i>Guignardia bidwellii</i>	31	
	<i>Microascus desmosporus</i>	1	
	<i>Phaeoramularia calotropidis</i>	98	
	<i>Rhodotorula glutinis</i>	8	
	<i>Xylaria</i> sp.	2	
<i>Bauhinia forficata</i>	<i>Curvículo Acremonium</i>	9	BEZERRA, J. D. P. et al., 2015.
	<i>Ascotricha chartarum</i>	2	
	<i>Aspergillus niger</i>	5	

	<i>Um. ochraceus</i>	7	
	<i>Cochliobolus australiensis</i>	1	
	<i>C. lunatus</i>	6	
	<i>Cladosporium oxysporum</i>	6	
	<i>C. Sphaerospermum</i>	5	
	<i>Diplococcium spicatum</i>	1	
	<i>Gibberella baccata</i>	4	
	<i>G. fujikuroi</i>	10	
	<i>Khuskia oryzae</i>	3	
	<i>Lasmeniabalansae</i>	1	
	<i>Myrmecridium schulzeri</i>	1	
	<i>Myrothecium verrucaria</i>	10	
	<i>Nodulisporium sp.</i>	1	
	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	1	
	<i>P. comuna</i>	2	
	<i>P. Corylophilum</i>	1	
	<i>P. glabrum</i>	3	
	<i>P. implícito</i>	2	
	<i>Phoma putaminum</i>	1	
	<i>Phomopsis diachenii</i>	2	
	<i>Pithomyces atro-olivaceus</i>	1	
	<i>Spegazzinia tessarthra</i>	1	
	<i>Talaromyces funiculosus</i>	2	
	<i>Trichoderma piluliferum</i>	7	
<i>Hancornia Speciosa</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	5	OLIVEIRA, M. B. O. et al., 2017
	<i>Aspergillus niger</i>	8	
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	3	
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	14	
	<i>Fusarium lateritium</i>	4	
	<i>Fusarium solani</i>	6	
	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	13	
	<i>Mariannaea elegans</i>	2	
	<i>Mycelia sterilia</i>	5	
	<i>Nigrospora sphaerica.</i>	7	
	<i>Penicillium fellutanum</i>	8	
	<i>Phoma cava</i>	16	
	<i>Phomopsis archeri</i>	10	
	<i>Trichoderma harzianum</i>	11	
<i>Tritirachium oryzae</i>	4		

CONCLUSÃO

Observamos que os fungos endofíticos tem uma grande importância biotecnológica para os diversos segmentos dos setores industriais, que necessita de maiores estudos, o atual levantamento mostra o quão escassas são as pesquisas relacionadas a diversidades de espécies fúngicas em vegetais na caatinga, portanto, estudos futuros visando o conhecimento de fungos endofíticos em plantas da Caatinga poderiam ser realizados, a fim de obter um conhecimento qualitativo e quantitativo sobre os fungos endofíticos desse bioma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEZERRA, J. D. P. et al. Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 49-57, 2015.
- CALDERANI, F. A. et al. Compostos Bioativos com Propriedades Antitumorais Produzidos por Fungos Endofíticos. **Revista Uningá Review**, v. 25, n. 2, 2018.
- CAVALCANTI, R. M. F. et al. Screening, selection and optimization of the culture conditions for tannase production by endophytic fungi isolated from caatinga. **J. Appl. Biol Biotechnol**, v. 5, p. 1-9, 2017
- FERRARA, M. A. Fungos Endofíticos. Potencial para a Produção de Substâncias Bioativas. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 2, n. 01, p. 73-79, 2013.
- FREIRE, K. T. L. S. et al. Fungos endofíticos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (cactaceae) sadia e infestada por *Dactylopius opuntiae* (cockerell, 1896) (Hemiptera: Dactylopiidae). **Gaia Scientia**, v. 9, n. 2, 2015.
- KNAPP, D. G. et al. Comparative genomics provides insights into the lifestyle and reveals functional heterogeneity of dark septate endophytic fungi. **Scientific Reports**, n. April, p. 1– 13, 2018.
- NASCIMENTO, T. L. et al. Biodiversity of endophytic fungi in different leaf ages of *Calotropis procera* and their antimicrobial activity. **Fungal ecology**, v. 14, p. 79-86, 2015.
- OLIVEIRA, M. B. O. et al. Antimicrobial activity of cultivable endophytic fungi associated with *Hancornia speciosa* gomes bark. **The open microbiology journal**, v. 11, p. 179, 2017.
- PAMPFILE, J. A. et al. Aplicações Biotecnológicas de Metabólitos Secundários Extraídos de Fungos Endofíticos: O Caso do *Colletotrichum* sp. **Revista UNINGÁ**, v. 53, p. 113–119, 2017.
- PIRES, I. M. et al. Potencial Antibacteriano de Fungos Endofíticos de Cactos da Caatinga, uma Floresta Tropical Seca no Nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**, v. 9, p. 155–161, 2015.
- SOUZA, J. T.; TROCOLI, R. O.; MONTEIRO, F. P. Plants from the Caatinga biome harbor endophytic *Trichoderma* species active in the biocontrol of pineapple fusariosis. **Biological control**, v. 94, p. 25-32, 2016.
- TAN, X. et al. Diversity and bioactive potential of culturable fungal endophytes of *Dyosma versipellis*; a rare medicinal plant endemic to China. **Scientific Reports**, n. March, p. 1–9, 2018.

O PAPEL DAS METALOPROTEINASES DE MATRIZ EXTRACELULAR NA DOENÇA DE PARKINSON: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Crislayne Gonçalo de Santana Marinho¹; Ingrid Prata Mendonça¹; Emanuelle Maria da Silva¹; Manuela Correia Dionísio¹; Maria José Bernardo da Silva Filha¹

Estudante de Biomedicina – Universidade Federal de Pernambuco¹

RESUMO

Introdução: A Doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente no mundo, apresentando-se principalmente por tremores, lentidão de movimentos, rigidez matinal e outros sintomas neurológicos. **Objetivos:** Visando descobrir novas estratégias terapêuticas para a Doença de Parkinson, buscamos na literatura os trabalhos realizados nos últimos 18 anos sobre a participação da atividade de proteases conhecidas como metaloproteinasas de matriz na neurodegeneração presente na Doença de Parkinson. **Metodologia:** No presente estudo, nós reunimos diversos estudos experimentais publicados no período do ano 2000 à 2018 com animais e com humanos que investigaram a participação das Metaloproteinasas de matriz na patogênese da Doença de Parkinson. **Resultados:** Fortes evidências experimentais sugerem que as Metaloproteinasas de matriz principalmente as dos tipos 3, 8, 9 e 12 participam do início e manutenção da DP induzindo neuroinflamação e morte neuronal na substância nigra. **Conclusão:** De acordo com os resultados encontrados, concluímos que alguns tipos de metaloproteinasas de matriz são relacionadas ao Parkinson, existindo concordância entre os estudos, e que a inibição das mesmas implica em uma melhora nos sintomas e na neuroinflamação, podendo assim ser uma nova estratégia terapêutica para a Doença de Parkinson.

Palavras-Chave: Doença de Parkinson; metaloproteinasas de matriz; neuroinflamação; neurodegeneração.

INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) foi descrita por James Parkinson (1817) que, na ocasião, a descreveu como “paralisia agitante”, é a segunda doença neurodegenerativa com maior incidência no mundo, sendo, portanto, considerada um grave problema de saúde pública. Os indivíduos acometidos com a DP, em sua maioria, têm acima de 50 anos, com raras exceções onde a doença atinge pessoas com menos de 30 anos. (EEDEN et al., 2003; OBESO et al., 2010). Segundo o IBGE, até o ano 2000, no Brasil existia uma população de cerca de 200 mil indivíduos com DP, em sua maioria acima de 50 anos de idade (SOUZA et al., 2011).

Trata-se de uma doença degenerativa do Sistema Nervoso Central (SNC) causadora de sintomas motores e não motores, cujos sintomas motores que incluem tremor em repouso, rigidez muscular, bradicinesia, hipocinesia e alterações na postura e no equilíbrio, decorrem da morte de neurônios dopaminérgicos na *substantia nigra Pars compacta*, enquanto que a depressão é o principal sintoma não motor. As causas que levam ao desenvolvimento da DP ainda não foram completamente elucidadas, no entanto, vários estudos a consideram uma doença de etiologia multifatorial, tendo portanto, contribuições de fatores múltiplos incluindo envelhecimento natural, susceptibilidade genética e fatores ambientais (FAHN, 2003; SAMII et

al., 2004). Além disso, alguns mecanismos como agregação proteica, estresse oxidativo, neuroinflamação, apoptose e atividade de metaloproteinases de matriz, tem sido sugeridos como participantes do processo neurodegenerativo (LORENZL et al., 2002; CHO et al., 2009).

A DP provoca incapacidade motora progressiva, que chega a ser grave após 10 ou 15 anos, o que gera um considerável impacto social e financeiro. Estima-se que o custo anual mundial com tratamento medicamentoso esteja em torno de 11 bilhões de dólares, sendo este cerca de 3 a 4 vezes mais caro para pacientes na fase avançada da doença (SIDEROWF et al., 2000). O tratamento utilizado atualmente para a DP compreende o uso de medicamentos que, entre outras ações, visam suprir a deficiência dopaminérgica no sistema nigroestriatal, porém, apresenta muitos efeitos adversos incluindo interferências em outras vias dopaminérgicas, além de não ser capaz de restituir a perda de células dopaminérgicas na via nigroestriatal (SILVA et al., 2010).

OBJETIVO

A pouca compreensão sobre a fisiopatologia da DP constitui uma barreira para o desenvolvimento de uma terapia medicamentosa eficaz, que possa não só melhorar temporariamente os sintomas, mas evitar a progressão da degeneração no SNC. Neste sentido, vários estudos vêm sendo realizados com o objetivo de investigar experimentalmente o envolvimento de uma família de proteases conhecidas como metaloproteinases de matriz extracelular (MMP's) no processo que leva à neurodegeneração na DP.

METODOLOGIA

Para esta revisão sistemática, reunimos artigos publicados nos últimos 18 anos na plataforma PubMed com as palavras-chaves “*Doença de Parkinson, Metaloproteinases de Matriz Extracelular; Neuroinflamação*”. contendo resultados experimentais nos quais foram encontradas fortes evidências de que, dentre os mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia da DP, a atividade anormal de MMP's pode está contribuindo para a morte de neurônios dopaminérgicos, e também levantamos a hipótese de que a inibição das MMP's pode ser uma futura estratégia terapêutica para doenças como a DP.

REVISÃO

As MMPs são uma família de proteínas composta por 21 membros. Elas podem ser divididas nos seguintes subgrupos: (1) colagenases, (2) gelatinases (3) estromelinas (4) MMPs transmembrana. Juntas, elas degradam todos os componentes proteicos conhecidos da MEC (KERKELÄ; SAARIALHO- KERE, 2003). No SNC, a atividade das MMPs é mais intensa durante o desenvolvimento, onde elas participam do crescimento axonal, modulam a migração de células progenitoras aos seus destinos específicos, além de atuarem na formação do processo oligodendroglial e formação da mielina (ROSENBERG, 2009). Estudos recentes têm sugerido um efeito a longo prazo das MMPs em doenças neurodegenerativas, incluindo a DP, pois influenciam apoptose de neurônios dopaminérgicos (ROSENBERG et al, 2009; BRKIC et al, 2015; REMPE; HARTZ; BAUER, 2016).

Considerando a influência nos genes de cada indivíduo na DP, Chen et al. (2016) e Bialecka et al. (2017) mostraram com estudos genéticos com pacientes parkinsonianos que o polimorfismo de nucleotídeo único na MMP-9 rs17576 AA, com genótipo recessivo está moderadamente associado à susceptibilidade à DP, e o polimorfismo rs652438, um dos dois

principais tipos de polimorfismos na molécula de MMP-12 foi encontrado mais frequente em pacientes com DP comparados ao controle, através de PCR realizada em amostras de DNA de saliva dos pacientes e indivíduos saudáveis.

Ratos com DP induzidos por Lipopolissacarídeo de *Echerichia coli* (LPS) e células BV2 também tratadas com LPS, receberam inibidor de MMP 8, o qual foi capaz de atenuar significativamente astrogliose (GFAP) e microgliose (iba -1) induzidas pelo LPS, na substância nigra dos ratos, sugerindo que o inibidor reduz neuroinflamação pela modulação de atividade de microglia e astrócitos, além de também reduzir a expressão de TNF- α nos cérebros dos ratos e no sobrenadante da cultura de células, IL-1B, IL-6 e receptores Toll like tipo 2 no hipocampo e mesencéfalo dos ratos, assim como houve melhora também na performance motora e comportamental nos testes de rotarod e campo aberto respectivamente no grupo tratado com o inibidor em relação ao tratado apenas com LPS, sugerindo assim que há relação entre os efeitos anti-neuroinflamatórios e a melhora motora e comportamental decorrente da administração do inibidor da MMP 8 (KIN et al, 2017). Além da MMP-8, a MMP-9 também pode está envolvida no processo degenerativo da DP (KIM SY et al, 2010; HE et al, 2013). Neurônios dopaminérgicos lesionados liberam MMP-9, que favorece a ativação de astrócitos e microglia, que por sua vez reforçam seu estado reativo liberando mais MMP-9, ampliando a neurodegeneração na via nigroestriatal (ANNESE et al, 2015).

A associação entre a atividade aumentada da MMP-3 e a patologia da DP também já foi mostrada em diversos estudos experimentais (CHOI et al, 2008; CHO et al, 2009; CHOI et al, 2011; SHIN et al, 2012; HOVE et al, 2012). Hung et al. (2013), além de atestarem por imunohistoquímica, a neurodegeneração e neuroinflamação em um modelo com ratos, mostraram também que após retirada do gene para MMP-3, houve redução da morte de neurônios bem como da neuroinflamação na via nigroestriatal e melhora no comprometimento da barreira hemato-encefálica.

CONCLUSÃO

Considerando a quantidade de estudos que demonstraram o envolvimento das MMPs, dentro da multifatorialidade causal da DP, pode-se concluir que, a inibição da atividade das MMPs é uma estratégia terapêutica a se considerar para ajudar no tratamento do Parkinson, pois tanto em estudos em pacientes quanto em modelos experimentais, pode-se observar a melhora tanto na neurodegeneração e inflamação quanto nos sintomas motores da DP.

REFERÊNCIAS

ANNESE V. et al. Metalloproteinase-9 contributes to inflammatory glia activation and nigro-striatal pathway degeneration in both mouse and monkey models of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinsonism. **Brain Structure and Function**, v.220, p.703-720, 2015.

BIALECKA M. et al. Effects of common functional MMP12 gene polymorphisms on PD in a Polish population. **Neurologia I Neurochirurgia Polska**, v.51, p.347-353, 2017.

BRKIC M. et al. Friends or Foes: Matrix Metalloproteinases and Their Multifaceted Roles in Neurodegenerative Diseases. **Mediators of Inflammation**, v.2015, p.581-620, 2015.

CHEN Y-C. et al. Associations of Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitory Factor-1 Polymorphisms with Parkinson Disease in Taiwan. **Medicine**, v.95, p.5, 2016.

CHO Y. et al. Doxycycline is neuroprotective against nigral dopaminergic degeneration by a dual mechanism involving MMP-3. **Neurotoxicity Research**, v.14, p.361-710, 2009.

CHOI et al. Role of matrix metalloproteinase 3-mediated alpha-synuclein cleavage in dopaminergic cell death. **The Journal of Biological Chemistry**, v.16, p.14168-770, 2011.

CHUNG YC. Et al. MMP-3 contributes to nigrostriatal dopaminergic neuronal loss, BBB damage, and neuroinflammation in an MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Mediators of Inflammation**, v.2013, p.370-526, 2013.

EEDEN, S.K.V.D. et al. Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. **American Journal of Epidemiology**, v.157, p.1015–1022, 2003.

FAHN, S. Description of Parkinson's Disease as a Clinical Syndrome. **Annals- New York. Academy of Sciences**, v.991, p.1–14, 2003.

HE X. et al. Association studies of MMP-9 in Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis. **PloS One**, v.9, p.737-770, 2013.

HOVE V. et al. Matrix metalloproteinase-3 in the central nervous system: a look on the bright side. **Journal of Neurochemistry**, v.132, p.203-160, 2012.

KERKELÄ, E.; SAARIALHO-KERE, U. Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer. **Experimental Dermatology**, v.12, n.2, p.109–25, 2003.

KIN J. et al. Suppression of neuroinflammation by matrix metalloproteinase-8 inhibitor in aged normal and LRRK2 G2019S Parkinson's disease model mice challenged with lipopolysaccharide. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.493, p.879–886, 2017.

LORENZL, S. et al. Matrix metalloproteinase-9 is elevated in 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced Parkinsonism in mice. **NeuroMolecular Medicine**, v.5, n.2, p.119–131, 2004.

OBESO, J.A. et al. Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. **Nature Medicine**, v.16, p.653–661, 2010.

REMPE, HARTZ and BAUER. Matrix metalloproteinases in the brain and blood–brain barrier: versatile breakers and makers. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v.36, p.1481–50, 2016.

ROSENBERG, 2009. Matrix metalloproteinases and their multiple roles in neurodegenerative diseases. **Lancet Neurology**, v.8, p.205–16, 2009.

SAMII, A.; NUTT, J.G.; RANSOM, B.R. Parkinson's disease. **The Lancet**, v.363, n.9423, p.1783-93, 2004.

SHIN EJ. Et al. Matrix metalloproteinase-3 is activated by HtrA2/Omi in dopaminergic cells: relevance to Parkinson's disease. **Neurochemistry International**. v.60, p.249-560, 2012.

SIDEROWF, A.D.; HOLLOWAY, R.G.; STERN, M.B. Cost-Effectiveness Analysis in Parkinson's disease: Determining the Value of Interventions. **Movement Disorders**, v.15, n.3, p.439–445, 2000.

SILVA et al, 2010. Doença de Parkinson: recomendações. Ed. 1. **São Paulo: Omnifarma**, 2010.

SOUZA, C.F.M.. et al. A Doença de Parkinson e o processo de envelhecimento motor: uma revisão de literatura. **Revista Neurociências**, v.19, n.4, p.718-723, 2011.

YONG, V.W. The potential use of MMP inhibitors to treat CNS diseases. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v.8, n.3, p.255-268, 2000.

GOTA ÚRICA EM AVES: REVISÃO DE LITERATURA

Sinara Fernanda Souza da Silva¹, Vanessa Maranhão Soares¹, Lucilo Bioni da Fonsêca Filho², Alane Barbara Patriota Nogueira¹, Elizabeth Pereira Souza¹, Júlio César dos Santos Nascimento³

1 Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Maurício de Nassau, Recife-PE, Brasil.

2 Mestrando da Universidade Federal Rural de Pernambuco, programa de Ciência Animal Tropical.

3 Professor adjunto da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

Resumo: Introdução: A gota úrica é uma doença causada pela deposição do urato nos órgãos e tecidos. Essa enfermidade pode ser classificada em visceral ou articular a depender dos órgãos afetados. Essa patologia possui elevada mortalidade e morbidade. Portanto, é de grande importância o conhecimento sobre a sua fisiopatogenia e sinais clínicos. Objetivo: A presente revisão de literatura tem como objetivo descrever a fisiopatogenia da gota úrica em aves. Metodologia: Para a realização deste trabalho foram utilizados livros veterinários e artigos obtidos do banco de dados da PubMed, Google Acadêmico e Lilacs. Revisão de Literatura: O metabolismo protéico das aves ocorre pela transformação da amônia em ácido úrico. Esse processo ocorre no fígado e nos rins. Após a produção do urato, este é transportado pela corrente sanguínea até os rins onde deverá ser excretado. A diminuição da excreção do urato pelos rins ou aumento da produção do urato pode resultar na hiperuricemia com consequente deposição de cristais de urato nos órgãos. Conclusão: O diagnóstico da doença geralmente ocorre durante a necropsia. Além disso, os sinais clínicos são muitas vezes ausentes ou tardios, dificultando a realização do tratamento. O conhecimento sobre as patologias que podem ocasionar a manifestação da gota úrica é de grande importância para o diagnóstico e tratamento precoce e prevenção da enfermidade.

Palavras-chave: urato, metabolismo protéico, hiperuricemia.

INTRODUÇÃO

A gota úrica é um distúrbio ocasionado pela deposição de ácido úrico nos órgãos e tecidos. Essa deposição é decorrente, principalmente, da hiperuricemia. As aves são mais propensas à essa doença por serem uricotélicas, ou seja, o produto residual de seu metabolismo protéico é o ácido úrico. Além disso, as aves não possuem a enzima uricase, responsável pela conversão do ácido úrico em alantoína. O urato é um ácido pouco solúvel em água, o que pode contribuir para a sua precipitação e deposição nos órgãos. A maioria dos casos de gota está relacionada à produção excessiva ou excreção diminuída do urato (VEGAD, 2007). A gota úrica pode ser classificada em articular ou visceral. Todavia, essa classificação tem muitas divergências na literatura. Alguns autores consideram a gota úrica visceral e articular como uma única patologia, enquanto outros consideram morbidades separadas (SILLER, 1981). Segundo Vegad (2007) a gota é classificada em visceral se o ácido úrico for depositado nas vísceras e articular se for depositado no entorno das articulações. De acordo com Siller (1981) na gota úrica visceral pode ocorrer a deposição de urato nas articulações, porém não há reação tecidual inflamatória, ao contrário da gota úrica articular. Na gota articular não ocorrerá a deposição do urato nas vísceras. Doneley (2016) considera que, geralmente, a doença renal aguda ocasiona a gota visceral enquanto a doença renal crônica dará origem a gota articular. A gota úrica é uma

doença com elevada morbidade e mortalidade. Portanto, é imprescindível o conhecimento sobre a sua fisiopatogenia e sinais clínicos desta enfermidade.

OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo descrever a Fisiopatogenia da gota úrica em aves.

METODOLOGIA

O presente trabalho caracteriza-se por um estudo bibliográfico realizado pela seleção de artigos científicos nos bancos de dados digitais do Google Acadêmico, PubMed, SCIELO e LILACS. Os descritores utilizados incluíram “Gota úrica”, “Gout”, “Visceral Gout” e “Articular Gout”. Também foram consultados livros de clínica de aves e patologia veterinária.

REVISÃO

Nas aves, o metabolismo protéico ocorre pela transformação da amônia à ácido úrico. A amônia é convertida na seguinte ordem, respectivamente, em glutamato, glutamina, glicina e aspartato. Uma molécula denominada purina se incorpora ao aspartato, transformando-o em xantina. O ácido úrico é formado pela metabolização da xantina pela enzima xantina oxidase. Esse processo ocorre, principalmente, no fígado e em pequena quantidade no rim. O ácido úrico ao se ligar à amônia ou íons sódio e potássio se torna solúvel, sendo então transportado pela corrente sanguínea para os rins, onde deverá ser excretado (DONELEY, 2016). Determinadas patologias podem ocasionar uma hiperuricemia prolongada que resultará na precipitação do ácido úrico nas articulações e em órgãos viscerais (CHITTY; LIERZ, 2008). A maioria dos casos de hiperuricemia está associada a uma elevada produção ou excreção diminuída do urato (VEGAD, 2007).

A deposição do urato nos órgãos é, na maioria das vezes, ocasionada por falha na excreção urinária devido à obstrução, lesões renais, malformações renais congênitas ou desidratação. Portanto, quando ocorre alguma lesão renal, há interferência na eliminação do urato, que se acumulará no sangue e ocasionará a hiperuricemia (VEGAD, 2007; CHITTY; LIERZ, 2008; SCHMIDT et al., 2015). A hiperuricemia ocorre quando mais de 70% da função renal está comprometida (DONELEY, 2016). Entre as causas de insuficiência renal se incluem as toxicoses, infecções crônicas e amiloidose (HARRISON; LIGHTFOOT, 2006). Na desidratação o rim ainda é capaz de secretar ácido úrico, todavia, o fluxo de urina é baixo o que permite a precipitação dos cristais dentro dos túbulos com consequente obstrução (LIERZ, 2003). Caso a desidratação seja momentânea ocorre a reversão do quadro, porém a sua persistência ocasionará insuficiência renal (SCHMIDT et al., 2015). A gota úrica também pode ser gerada por níveis elevados de proteína e cálcio na dieta, hipervitaminose, deficiência de vitamina A, toxicidade ao bicarbonato de sódio, micotoxicose e infecções (VEGAD, 2007; CHAUHAN, 2010; TULLY et al., 2010; BOULIANNE et al., 2012).

A gota úrica visceral ocorre devido a deposição de cristais de urato na superfície das vísceras, ocasionando rapidamente o óbito do animal, sendo rara uma recuperação (CHITTY; LIERZ, 2008; TULLY et al., 2010). A causa da morte pode ser decorrente dos danos teciduais aos órgãos pelo urato ou por parada cardíaca devido uma hipercalemia (LIERZ, 2003; DONELEY, 2016). Na maioria das vezes o diagnóstico ocorre durante a necropsia. Geralmente o animal não apresenta sinais clínicos, além da morte súbita. Alguns sinais associados incluem depressão, perda de peso, poliúria, polidipsia e apatia (HARRISON; LIGHTFOOT, 2006;

CHITTY; LIERZ, 2008; BOULIANNE et al., 2012; DONELEY, 2016). Durante a necropsia são encontradas massas brancas acinzentadas depositadas nas vísceras. Todos os órgãos podem ser acometidos, havendo ocorrido relatos de depósitos no pericárdio, epicárdio, coração, pulmões, sacos aéreos, peritônio, fígado, baço, trato gastrointestinal, pró-ventrículo, ventrículo, mesentério, músculos e articulações (VEGAD, 2007; CHAUHAN, 2010; TULLY et al., 2010; COPPOLA et al., 2013; SALES et al., 2015; SCHMIDT et al., 2015; DONELEY, 2016). No exame histológico pode ser observado os cristais de urato circundados por macrófagos, células gigantes e linfócitos. Os cristais de urato se assemelham à uma agulha. O tecido pode apresentar-se edemaciado, congesto, hemorrágico, degenerado e necrótico. No fluido da cavidade celomática pode haver a presença de cristais e elevada concentração de células inflamatórias (VEGAD, 2007; CHAUHAN, 2010; SCHMIDT et al., 2015).

Os cristais de urato, na gota úrica articular, se depositam no entorno das articulações, cápsula sinovial e tendões (CHITTY; LIERZ, 2008; DONELEY, 2016). Quando os cristais são depositados na articulação, ocorre a atração e ativação do sistema complemento, com consequente chegada de neutrófilos e macrófagos no tecido. A fagocitose dos cristais pelas células de defesa resulta na liberação de radicais livres tóxicos, morte de neutrófilos e liberação das enzimas lisossomais. Além disso, os macrófagos, após a fagocitose dos cristais de urato, liberam mediadores pró-inflamatórios, que intensificam a inflamação e ativam as células sinoviais e da cartilagem. Essas células liberam proteases que ocasionarão lesão na cartilagem e desenvolvimento de uma artrite aguda (VEGAD, 2007). As aves acometidas pela gota articular não apresentam um bom prognóstico decorrente da rápida evolução da doença e da dor ocasionada, podendo ser recomendada a eutanásia (TULLY et al., 2010). Os sinais clínicos incluem dor intensa, inchaço na articulação, claudicação, asas caídas, perda de peso, poliúria e polidipsia (CHITTY; LIERZ, 2008; DONELEY, 2016). O animal pode ter a incapacidade de curvar os dedos do pé e possuir dificuldade de ficar em pé no poleiro (DONELEY, 2016). Pode ser observado uma substância branca visível sobre a pele (VEGAD, 2007). As articulações mais afetadas são as metatarsofalângicas e interfalângicas (SILLER, 1981). Quando é realizada a incisão na cápsula articular é observado material esbranquiçado de aspecto caseoso (SCHMIDT et al., 2015). Também pode ser encontrado pequenos nódulos esbranquiçados (LIERZ, 2003).

CONCLUSÃO

A gota úrica é uma patologia que causa elevada mortalidade nas aves. Os sinais clínicos são ausentes ou presentes apenas após estado avançado da doença, dificultando o seu diagnóstico. Assim, a prevenção desta doença é essencial. O conhecimento sobre quais patologias podem predispor à gota úrica é importante para a realização de um tratamento prévio e prevenção desta enfermidade.

REFERÊNCIAS

BOULIANNE, M. et al. **Avian Disease Manual**. 7.ed. Florida: AAAP, 2012

CHAUHAN, R. S. **Textbook of Veterinary Pathology: Quick Review and Self Assesment**. 1.ed. India: IBDC, 2010.

CHITTY, J.; LIERZ, M. **Manual of Raptors, Pigeons and Passarine Birds**. Quedgeley: BSAVA, 2008.

COPPOLA, M. P. et al. Gota úrica visceral em tucano toco (*Ramphastos toco*). **Veterinária e Zootecnia**, v.20, p.206-263, 2013.

DONELEY, B. **Avian Medicine and Surgery in Practice: Companion and Aviary Birds**. Boca Raton: CRC Press, 2016.

HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT, T. L. **Clinical Avian Medicine**. Florida: SPIX, 2006.

LIERZ, M. Avian Renal Disease: Pathogenesis, diagnosis, and therapy. **Vet Clin Exot Anim**, v. 6, p.29-55, 2003.

SALES, I. S.; NOGUEIRA, C. H. O.; SILVEIRA, L. S. S. Gota úrica visceral em coruja suindara (*Tyto Alba*) de vida livre. **Pesq. Vet. Bras**, v.35, p.169-172, 2015.

SCHMIDT, R. E.; REAVILL, D. R.; PHALEN, D. N. **Pathology of Pet and Aviary Birds**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2015.

SILLER, W.G. Renal Pathology of the fowl: A Review. **Avian Pathology**, v. 10, p. 187-262, 1981.

TULLY, T. N.; DORRESTEIN, G. M.; JONES, A. K. **Clínica de aves**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

VEGAD, J. L. **A textbook of Veterinary General Pathology**. 2.ed. India: IBDC, 2007.

INTERAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL COM A NEUROINFLAMAÇÃO: UM ENFOQUE NA MICRÓGLIA

Daniela Barbosa de Lima Nascimento¹, Rebeca Larissa Nepomuceno Torres¹, Sabryna Kelly Bezerra da Silva Araújo¹, Rayssa Gysele Teixeira da Silva¹, José Rafael Soares dos Reis¹, Michel Gomes de Melo²

¹Discentes do curso bacharelado em enfermagem da Universidade Tabosa de Almeida- ASCES/UNITA, Caruaru/PE. ²Docente do curso de enfermagem da Universidade Tabosa de Almeida- ASCES-UNITA, Caruaru/PE.

RESUMO

Introdução: O intestino está diretamente ligado com o sistema nervoso central (SNC), através do sistema nervoso entérico, via nervo vago, alterações na microbiota podem ativar as micróglia, um tipo de célula glial especializada, semelhante a macrófagos, que desempenham funções imunes no SNC. **Objetivo:** Descrever a ativação da micróglia através do eixo intestino-cérebro. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão sistemática, cujos artigos são provenientes da base de dados MEDLINE. Os descritores utilizados foram provenientes do DeCS, respectivamente: Gastrointestinal Tract e Microglia. Como critérios de elegibilidade: publicações em inglês entre os anos de 2013 a 2018. Foram excluídos artigos de revisão e que não se adequaram a temática pesquisada. **Resultados e discussão:** O Lipopolissacarídeo exógeno, a colite, a hipersensibilidade visceral, a infecção por *Toxoplasma gondii* induzidas em modelos animais demonstraram hiperativação das vias de comunicação do intestino com o cérebro, ocasionando estresse e ativação da micróglia. Esta ativação prolongada causa neuroinflamação e está envolvida na fisiopatologia de doenças neurodegenerativas e neuropsiquiátricas. **Conclusão:** Constatou-se a necessidade de possuir uma integridade da mucosa intestinal, bem como, a importância do funcionamento do eixo intestino-cérebro, visto que, o sistema gastrointestinal tem relação direta com a micróglia, evitando neuroinflamação.

Palavras-Chave: Cérebro; Intestino; Microglia; Sistema Nervoso Central

INTRODUÇÃO

O intestino está diretamente ligado com o sistema nervoso central (SNC), através do sistema nervoso entérico, via nervo vago, alterações na microbiota podem ativar as micróglia, um tipo de célula glial especializada, semelhante a macrófagos, que desempenham funções imunes no SNC (WIDMAIER, 2013). Também é responsável por outras funções como reparo tecidual e regeneração neural, secreção de fatores de crescimento, remoção de detritos potencialmente nocivos, buscando sempre a manutenção da homeostase do SNC.

O controle neural da função gastrointestinal, é composto por neurônios intrínsecos, embora possa haver modulação por parte de neurônios extrínsecos e células da glia. Alterações patológicas no intestino podem ocasionar hiperestimulação dessas vias, e como resultado desencadear exacerbação dos mecanismo de defesa da micróglia, podendo causar neuroinflamação, doenças neurodegenerativas e neuropsiquiátricas.

Estudos apontam que em condições fisiológicas, a microbiota intestinal ajuda a promover a homeostase do organismo, entretanto, considerando a vulnerabilidade do trato gastrointestinal,

a entrada de substâncias tóxicas e agentes patogênicos pode possibilitar uma comunicação com o sistema nervoso, estimulando a micróglia a provocar a neuroinflamação, que está envolvida em doenças como depressão, esclerose múltipla, alzheimer e doença de parkinson.

OBJETIVO

Este estudo tem por objetivo descrever a ativação da microglia pelas vias que compreendem e comunicam o intestino e o cérebro.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão de literatura de caráter sistemático cujos artigos utilizados são provenientes da base de dados Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), no qual foram adotados os seguintes critérios de elegibilidade: artigos publicados na língua inglesa entre os anos de 2013 a 2018, sendo excluídos da pesquisa artigos de revisão e que não se adequaram a temática do estudo.

Os descritores utilizados são provenientes do Descritores em Ciência da Saúde (DeCS), respectivamente: Gastrointestinal Tract e Microglia, sendo combinados utilizando o operador booleano AND. Por meio dos descritores empregados foram encontradas 74 publicações, após aplicação dos critérios de inclusão ficaram 35, das quais 16 foram excluídas através da leitura dos títulos, e 11 pela leitura dos resumos, ficando 8 para leitura na íntegra e por fim para compor este estudo, foram selecionados 5 artigos que satisfizeram os critérios de elegibilidade.

RESULTADOS

Diversos estudos induziram processos de hipersensibilidade visceral, colite e infecção por *Toxoplasma gondii*, além de introdução de substâncias exógenas no intestino, como o Lipopolissacarídeo (LPS). Estes experimentos tiveram como finalidade observar se processos patológicos intestinais ou determinadas substâncias eram capazes de ativar a micróglia, que está envolvida em doenças neurodegenerativas e neuropsiquiátricas.

Os estudos foram realizados em animais Livres de Germes (LG), animais convencionais, neonatos e adultos. Para isso foram feitos testes que avaliaram memória, estado de depressão, busca por recompensa e locomoção. Seguindo de estudos pós morte para verificar em qual região encefálica houve maior ativação da micróglia. Sendo o hipocampo, o hipotálamo e o tronco encefálico na região do núcleo motor dorsal do nervo vago, as regiões que obtiveram quantidade mais significativa de micróglia.

Os ratos LG tiveram menores efeitos depressivos que os animais convencionais, isso demonstra como a presença da microbiota interfere na comunicação do intestino com o cérebro e na ativação da micróglia. Em modelos neonatos os resultados apresentaram como o estresse precoce hiperestimula vias vagais e ativa a micróglia no núcleo paraventricular que é um centro de integração do hipotálamo, ocasionando a dor crônica através de liberação de citocinas tais como Fator de Necrose Tumoral (TNF) e Interleucina 1 Beta (IL-1 β). Este procedimento também altera o desenvolvimento neuronal e a neuroplasticidade, aumentando a suscetibilidade de doenças na fase adulta.

A presença da microbiota influenciada por LPS, provoca disfunção da barreira intestinal, o que favorece sua passagem para a circulação sistêmica, transpondo a barreira hematoencefálica, desencadeando a neuroinflamação por meio da resposta imune. Os dados

encontrados sugerem que microbiota intestinal pode afetar a ativação da micróglia e portanto, a produção de citocinas inflamatórias no cérebro.

A ativação da microglia favorece a liberação de protrombina que sofre ações enzimáticas até se tornar trombina, esta promove a ativação de caspase-3 o que causa apoptose em células nervosas e diminuição da sensibilidade aos neurotransmissores. Após sacrifício, amostras de tecido cerebral foram recolhidas e analisou-se que em média 12,7% da região do tronco cerebral foram prejudicadas pelos efeitos da trombina oriundas da ativação da micróglia.

Também foi analisado a importância da proteína receptora de células de defesa NOD-2 (oligomerização de ligação ao nucleotídeo-2), a qual está presente em células dendríticas, macrófagos, células de Paneth e em baixos níveis em células T. Animais com deficiência dessa proteína e que foram infectados com *Toxoplasmas gondii* apresentaram 50% a mais de células MPO7 positivas, como neutrófilos e monócitos do que os animais do grupo controle, isso causou um estresse oxidativo na mucosa da região ileal do intestino, além de uma maior perda de peso e necrose em algumas regiões. Foi visto que esse fluxo molecular intenso no intestino dos ratos ativou a via vagal, que estimulou a liberação de anticorpos f4/80 pelas células da micróglia, ocasionando processo inflamatório no SNC.

CONCLUSÃO

A presente revisão demonstra que o desequilíbrio na integridade da mucosa intestinal, altera a homeostase das vias de comunicação com o cérebro, ocasionando estresse, que posteriormente desencadeia ativação exacerbada do sistema neuroimune. Portanto, a compreensão da funcionalidade do eixo intestino-cérebro é importante para o desenvolvimento de novas terapias que podem prevenir a neuroinflamação agindo diretamente na micróglia.

REFERÊNCIAS

CAMPOS, A.C. et al. **Absence of gut microbiota influences lipopolysaccharide-induced behavioral changes in mice.** Behav Brain Res. 312: 186-194. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27316342>>. 2016.

FRITZE, D. et al. **Thrombin mediates vagal apoptosis and dysfunction in inflammatory bowel disease.** J Gastrointest Surg. 18 : 1495-1506. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24916589>>. 2014.

HEIMESAAT, M.M. et al. **Nucleotide-Oligomerization-Domain-2 Affects Commensal Gut Microbiota Composition and Intracerebral Immunopathology in Acute *Toxoplasma gondii* Induced Murine Ileitis.** Plos One. 9(8): e 105120. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4139296/>>. 2014.

WIDMAIER, E.P.; RAFF, H.; STRANG, K. T. **Vander Fisiologia Humana: Os mecanismos das funções corporais.** 12. ed. Rio de Janeiro. editora Guanabara Koogan S.A., p. 146. 2013.

ZHANG, G. et al. **Activation of corticotropin-releasing factor neurons and microglia in paraventricular nucleus precipitates visceral hypersensitivity induced by colorectal distension in rats.** Behav Brain Res. 55: 93-104. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26743854>>. 2016.

MIOPATIA DE CAPTURA EM ANIMAIS SELVAGENS: REVISÃO DE LITERATURA

Sinara Fernanda Souza da Silva¹, Vanessa Maranhão Soares¹, Lucilo Bioni da Fonsêca Filho², Alane Barbara Patriota Nogueira¹, Elizabeth Pereira Souza¹, Júlio César dos Santos Nascimento³

1 Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Maurício de Nassau, Recife-PE, Brasil.

2 Mestrando da Universidade Federal Rural de Pernambuco, programa de Ciência Animal Tropical.

3 Professor adjunto da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

Resumo: Introdução: A miopatia de captura é uma doença que ocorre em animais selvagens, sendo ocasionada por altos níveis de estresse durante o manuseio dos animais. Essa patologia de elevada mortalidade e morbidade ocasiona necrose muscular severa e óbito dos animais. Objetivos: O presente trabalho tem como objetivo abordar a fisiopatogenia da miopatia de captura nas espécies selvagens. Metodologia: Para a realização desta revisão de literatura foram utilizados livros veterinários e artigos obtidos de revistas e do banco de dados do Google Acadêmico, Lilacs e Pubmed. Revisão de Literatura: A patogenia da miopatia de captura está relacionada a liberação de substâncias simpaticomiméticas devido ao medo e à intensa atividade muscular anaeróbica. Essa enfermidade resultará na acidose metabólica, azotemia e choque irreversível levando o animal à óbito. Os sinais clínicos estão relacionados, principalmente, às lesões musculares como incoordenação, paresia, paralisia e ataxia. O animal também pode desenvolver mioglobínúria e olúria, apresentando urina de coloração escura. Os sinais clínicos sistêmicos incluem a acidose metabólica, fraqueza, dispnéia, depressão, colapso e morte. A miopatia de captura pode ser dividida de acordo com a sua clínica, alterações patológicas e tempo até a manifestação da enfermidade após o insulto estressante. O choque de captura, síndrome mioglobínúrica atáxica, síndrome do músculo rompido e a síndrome hiperaguda retardada fazem parte da classificação da miopatia de captura. Conclusão: O conhecimento sobre as diferentes formas na qual a miopatia de captura pode se manifestar no animal é de grande importância para o diagnóstico precoce e tratamento imediato desta enfermidade.

Palavras-chave: estresse, medo, necrose muscular, choque.

INTRODUÇÃO

A Miopatia de captura é uma doença metabólica de elevada morbidade e mortalidade (WEST et al., 2014). Esta doença é induzida por altos níveis de estresse causados no momento da captura, transporte ou manuseio dos animais selvagens (MILLER; FOWLER, 2014; WEST et al., 2014). Essa síndrome acomete, principalmente, as presas selvagens, porém pode ocorrer em predadores e animais domésticos (WEST et al., 2014; MULLLNEAUX; KEEBLE, 2016). A miopatia de captura já foi relatada em várias espécies dentre elas as lontras, cetáceos, mustelídeos, canídeos, marsupiais, ungulados e aves (MAXIE, 2016). Essa patologia é caracterizada pela intensa atividade e metabolismo anaeróbico muscular ocasionando o acúmulo de ácido láctico, severa acidose metabólica e necrose muscular secundária (MILLER; FOWLER, 2014; MULLLNEAUX; KEEBLE, 2016). Dentre os fatores predisponentes para a ocorrência desta enfermidade incluem-se a elevada temperatura e umidade, terrenos íngremes, chuva,

esforço prolongado sem descanso, manuseio excessivo, doenças subjacentes, infecções, deficiência de vitamina E e selênio, gravidez e idade avançada. A principal forma de prevenção desta doença é pelo planejamento cuidadoso da contenção e captura desses animais (MILLER; FOWLER, 2014; WEST et al., 2014). A miopatia de captura é uma enfermidade de elevada incidência e mortalidade. Assim, o conhecimento sobre a fisiopatogenia e sinais clínicos desta doença é de grande importância para a realização de um diagnóstico precoce e tratamento emergencial.

OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo abordar a fisiopatogenia da miopatia de captura nas espécies selvagens.

METODOLOGIA

O presente trabalho é uma revisão bibliográfica, onde foram utilizados artigos obtidos do banco de dados da Lilacs, PubMed e Google Acadêmico. Os descritores utilizados foram “Miopatia de captura” e “Capture myopathy”. Também foram utilizados livros veterinários sobre patologia e animais silvestres e artigos obtidos de revistas veterinárias.

REVISÃO

A patogenia da miopatia de captura envolve o medo, sistema nervoso simpático e adrenal e a atividade muscular, sendo resultado do estresse extremo e alto esforço muscular (WEST et al., 2014; MULLINEAUX; KEEBLE, 2016). Durante a captura de um animal ocorre a interrupção da atividade muscular e bloqueio da bomba muscular. A bomba muscular atua na contração da musculatura com o objetivo de expulsar o sangue dos capilares venosos, sendo importante para a dissipação do calor e retirada do ácido láctico oriundo das atividades metabólicas. Com a interrupção da bomba muscular ocorre estase sanguínea com consequente hipóxia tecidual. Devido a ausência de oxigênio, ocorrerá a glicólise anaeróbica para continuar a produção de energia para os músculos. A glicólise anaeróbica tem como resultado final a produção do lactato. Além disso, não ocorrerá a dissipação do calor devido a estase venosa. A consequência do acúmulo de ácido láctico, hipóxia e ausência da dissipação de calor ocasionarão a necrose muscular. A necrose das células musculares resulta no extravasamento de mioglobina e potássio para a circulação sanguínea. A mioglobina tem ação nefrotóxica, podendo levar a insuficiência renal aguda. A elevação da concentração de potássio ocasiona alteração no potencial elétrico das células cardíacas, levando à fibrilação ventricular e insuficiência cardíaca aguda. Como consequência final da miopatia de captura ocorrerá acidose metabólica, azotemia e choque irreversível com consequente hipoperfusão tecidual grave com necrose multifocal no fígado, coração, rins e musculatura estriada (DIAS, 1993; DUARTE, 1997; DUARTE, 2010). Além disso, durante o medo, ocorre a secreção de aminas simpatomiméticas. A liberação de adrenalina de modo excessivo ocasiona intensa vasoconstrição de alguns órgãos com consequente acúmulo de metabólitos, dano vascular e necrose celular. Ademais, a intensa glicólise em ambiente anaeróbico resulta na diminuição do pH sanguíneo. A acidemia irá ocasionar uma disfunção cardíaca. Assim, ocorrerá a redução da função cardíaca associada a diminuição na pressão circulatória sistêmica. A hipotensão levará a uma progressiva redução do retorno venoso com consequente hipóxia, lesão dos capilares e perda do tônus vasomotor. Devido a lesão dos vasos sanguíneos, ocorrerá o aumento da permeabilidade capilar e saída de líquido para o interstício, ocasionando o aumento da viscosidade sanguínea. O sangue viscoso

resulta em aumento no tempo de circulação, diminuição do aporte de oxigênio e maior lesão aos capilares. Todas essas alterações causam a diminuição do oxigênio para os órgãos, parada de funções vitais e no choque (HARTHOORN, 1976). Todos esses fatores podem levar ao óbito do animal. Quando o animal consegue sobreviver à morte aguda, pode vir à óbito posteriormente devido a insuficiência renal ocasionada pela mioglobinúria (MAXIE, 2016).

Os sinais clínicos incluem dispnéia, fraqueza, tremores musculares, hipertermia, ataxia, acidose metabólica, torcicolo, dor intensa, rigidez locomotora, incoordenação, paresia, paralisia, oligúria, acidose metabólica, depressão, colapso e morte. (DUARTE, 2010; MILLER; FOWLER, 2014; MAXIE, 2016; MULLNEAUX; KEEBLE, 2016). Nos exames laboratoriais, a maioria das alterações são encontradas na bioquímica sérica com elevação da aspartato aminotransferase (AST), creatinina fosfoquinase (CK) e lactato desidrogenase (LD) (FOWLER, 1993). As principais alterações macroscópicas estão relacionadas aos músculos, com presença de estrias pálidas e hemorrágicas. Nas alterações microscópicas há miodegeneração aguda e elevada quantidade de macrófagos (MAXIE, 2016).

A miopatia de captura também pode ser classificada, de acordo com a sua clínica, patologia e tempo de ocorrência em síndrome do choque de captura (fase hiperaguda), síndrome mioglobinúrica atáxica (fase aguda), síndrome do músculo rompido (subaguda) e síndrome hiperaguda retardada (crônica) (PACHALY et al., 1993; FAIRBROTHER et al., 1996; WEST et al., 2014). Na síndrome de choque por captura a morte ocorre rapidamente em minutos devido a falha no sistema cardiovascular. O animal apresenta depressão, temperatura corporal elevada, taquicardia, taquipneia, hipotensão arterial, hipertermia, mucosas hiperêmicas e morte súbita. Após a necropsia pode ser observado congestão e edema pulmonar, congestão e hemorragia intestinal e necrose do músculo cardíaco, cérebro, fígado, adrenal, nódulos linfáticos, baço, pâncreas e rins. Os achados histológicos incluem pequenas áreas de necrose nos órgãos supracitados. A mioglobinúria atáxica ocasiona lesão muscular e ataxia com a morte ocorrendo após um ou dois dias. Quando ocorre essa síndrome há o extravasamento de mioglobina das massas musculares ocasionando a mioglobinúria e oligúria. O animal também apresenta ataxia e torcicolo. Na necropsia pode ser observado hemorragias, edemas ou congestão no pulmão, fígado, rins, intestino e adrenal. O músculo esquelético tem as fibras musculares com áreas focais pálidas. A urina tem coloração escura. Os principais achados histológicos incluem necrose tubular renal e perda da estriação das miofibrilas. Na síndrome do músculo rompido há acidose metabólica, lesões renais e musculares com a morte ocorrendo após dias. Os sinais clínicos incluem fraqueza dos quartos, decúbito, ataxia e dor intensa. No exame macroscópico há hemorragia subcutânea nos membros posteriores, severa necrose e ruptura muscular. No exame histológico há necrose difusa nos músculos esqueléticos, com presença de fibrose e regeneração muscular. A síndrome hiperaguda lenta é rara e o animal pode sobreviver por dias a meses evoluindo à óbito por colapso cardíaco. Os animais aparentam normais, porém quando submetidos a um estímulo estressante ocorrerá fibrilação ventricular e morte. Os achados de necropsia são inespecíficos ou ocorre a presença de pequenos focos pálidos no músculo esquelético (FOWLER, 1993; PACHALY et al., 1993; FAIRBROTHER et al., 1996; DUARTE, 1997; BEDOTTI et al., 2004; WEST et al., 2014;).

CONCLUSÃO

A miopatia de captura é resultado do intenso estresse em momentos de manejo com os animais. Essa enfermidade ocasiona acidose metabólica, choque irreversível, hipoperfusão

tecidual grave e óbito do animal. Portanto, o conhecimento sobre a fisiopatogenia dessa doença assim como as possíveis manifestações clínicas que ocorrem no animal durante a enfermidade é imprescindível para um diagnóstico precoce e tratamento de suporte imediato.

REFERÊNCIAS

BEDOTTI, D. O. et al. **Miopatia post captura em Ciervo Colorado**. Boletín de Divulgación Técnica, EEA Anguil, v.79, p. 130-134, 2004.

DIAS, J. L. C. Miopatia de captura. **Informativo ABRAVAS**, v.1, n.1, p.1-2, 1993.

DUARTE, J. M. B. **Biologia, conservação de cervídeos sul-americanos: blastocerus, ozotocerus e mazama**. Jaboticabal:Funep, 1997.

DUARTE, J. M. B.; GONZALEZ, S. **Neotropical cervidology: Biology and Medicine of American Deer**. Jaboticabal:FUNEP, 2010.

FAIRBROTHER, A.; LOCKE, L.N.; HOFF, G.F. **Noninfectious diseases of wildlife**. 2.ed. Iowa: Ames, 1996.

FOWLER, M. **Zoo and Wild Animal Medicine, current therapy**.3. ed. Filadélfia: Saunders, 1993.

HARTHOORN, A. M. **Physiology of capture myopathy**. 1976.429f. Tese(Doutorado em Zoologia) – Curso de Faculte of Science Et University of Pretoria, Pretoria, 1976.

MAXIE, M. G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals**. 6.ed. Missouri: Elsevier, 2016.

MILLER, R. E.; FOWLER, M. **Fowler's zoo and wild animal medicine**. 8. ed. California: Saunders, 2014.

MULLNEAUX, E.; KEEBLE, E. **Manual of wild life casualties**. 2.ed. India: BSAVA, 2016.

PACHALY, J. R. et al. Estresse por captura e contenção em animais selvagens. **A Hora Veterinária**, v.13, n.74, p.47- 52, 1993.

WEST, G.; HEARD, D.; CAULKETT, N. **Zoo animal and wild life immobilization and anesthesia**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2014

ZHANG, G. et al. **Hippocampal microglial activation and glucocorticoid receptor down-regulation precipitate visceral hypersensitivity induced by colorectal distension in rats**. *Neuropharmacology*. 102: 295-303. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26656865>>. 2016.

OCORRÊNCIA DE TUBERCULOSE POR SEXO NO ESTADO DA BAHIA NO PERÍODO DE 2005 A 2015

Milena Roberta Freire da Silva¹, Flávia Steffany Leite Miranda², Karolayne Silva Souza³

Rafaell Batista Pereira⁴, Kátia Cilene da Silva Felix⁵

^{1, 2, 3}Graduandas do VI período do Curso de Bacharelado em Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro – FASETE,

⁴Fisioterapeuta. Mestre em Nutrição. Professor do Curso de Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro

⁵ Bióloga (Doutora em Fitopatologia) Professora do Curso de Biomedicina da Faculdade Sete de Setembro – FASETE.

RESUMO

Introdução: A tuberculose (TB) é uma doença de caráter infeccioso causado pelo *Mycobacterium tuberculosis*, caracterizando-se como um sério problema social, econômico e de saúde pública. **Objetivo:** O trabalho tem como objetivo avaliar a incidência de TB, bem como comparar os grupos masculino *versus* feminino quanto a incidência na Bahia (2005 a 2015). **Metodologia:** Trata-se de um estudo descritivo, quantitativo, realizado por meio dos dados disponíveis no DATASUS através do Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN no estado da Bahia no período de 2005 a 2015. **Resultados e Discussões:** De 2005 a 2015 foram registrados 64.933 novos casos de tuberculose no estado da Bahia, onde foi observado que cerca de 65% dos casos correspondem ao sexo masculino (42.373), e 35% dos casos ao sexo feminino (22.408). Na análise da diferença entre a média na taxa de incidência dos grupos masculinos *versus* feminino, a cada 100.000 habitantes, pode-se observar uma maior incidência na população masculina, com diferença entre as médias de 273 casos/100.000 habitantes. Diante disto, os resultados encontrados no presente estudo mostra que existe uma maior incidência de casos de TB na população masculina em relação à feminina de maneira significativa. **Conclusão:** Diante disto pode se correlacionar este resultado com fatores econômicos, culturais, sociais, condições biológicas ou até mesmo a falta de procura por estabelecimento de saúde para prevenção e diagnóstico da doença, e quando realiza a busca para o tratamento é feito tardiamente e possivelmente é abandonado.

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis*, incidência de tuberculose e epidemiologia.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença de caráter infeccioso causado pelo *Mycobacterium tuberculosis*, caracterizando-se como um sério problema social, econômico e de saúde pública. Esta é uma doença que existe há milênios e continua sendo uma grande preocupação global constituindo uma das dez principais causas de morte em todo o mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), é a doença infecciosa de agente único que mais mata, superando o HIV (PAULA, et al.; 2014; LIMA, et al.; 2017).

No ano de 2016, 10,4 milhões de pessoas adoeceram por TB no mundo, e cerca de 1,3 milhões de pessoas morreram em decorrência da doença. No Brasil em 2017, foram notificados 69.569 casos novos de TB, onde neste mesmo ano apresentou um coeficiente de incidência de

33,5 casos/100 mil habitantes (WHO; 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). O estado da Bahia é o terceiro em número de casos notificados de tuberculose no Brasil, com cerca de 7.000 novos casos por ano. No ano de 2017, foram notificados 4.099 novos casos de TB, apresentando um coeficiente de incidência de 26,7/100 mil habitantes. A Bahia ocupa o 8º lugar entre as maiores taxas de incidência do país e é o 3º estado com maior número de doentes, os maiores números de casos do estado ocorrem nos municípios de Salvador, Feira de Santana e Itabuna (MENESES, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

A TB afeta principalmente o parênquima pulmonar, sendo definida como TB pulmonar (TBP), podendo também ser transmitida para outras partes do corpo, e classificada como TB extrapulmonar (TBEP). A transmissão da TB ocorre principalmente pelas vias respiratórias, quando partículas contaminadas são dispersas no ar durante a fala, tosse ou espirro e entram em contato com o indivíduo saudável, as quais, ao serem inaladas e atingirem o interior dos macrófagos alveolares, dão início ao ciclo de replicação do *Mtb* no organismo (GOMES, 2013; COZER, et al., 2016; PEDRO, 2015).

A realização deste estudo fundamenta-se no fato de que a TB ainda continua sendo um grave problema de saúde pública, sendo uma das principais causas de mortalidade da população brasileira, embora seja uma doença curável. A identificação de grupos de maior risco ajuda na profilaxia da doença. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi verificar a incidência dos casos de tuberculose e comparar qual grupo apresenta maior risco para a doença (sexo) no estado da Bahia, no período de 2005 a 2015.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo, quantitativo, realizado por meio dos dados disponíveis no Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS) através do Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN no estado Da Bahia.

Foram analisados os dados de número de casos por tuberculose ocorrida em residentes do estado da Bahia, no período de 2005 a 2015, segundo sexo: masculino e feminino. As variáveis estudadas para os casos foram: casos por ano de notificação e sexo. Após a coleta procedeu-se a tabulação dos dados no programa Excel para determinar a incidência por 100.000 habitantes, que foram calculadas baseadas na taxa bruta e específica de mortalidade.

Análise estatística

Os demais dados coletados foram tabulados e analisados no *software* SPSS Statistics 22 win. Foi realizado o teste de Shapiro wilks com o intuito de testar a normalidade das variáveis, bem como o teste de homogeneidade de Levene. Aplicou se o teste de “Student” para comparar média as amostras independentes de até dois grupos, no caso masculino *versus* feminino. O nível de significância adotado alfa de 5% ($p \leq 0,05$), para determinar se os resultados são ou não significativamente estatísticos. Para análise da estatística descritiva básica, foi feito média e o desvio padrão, de forma a ilustrar os resultados obtidos na pesquisa.

Questões Éticas e Legais

O estudo cumpriu as normas dispostas na Resolução 466/2012 e 510/2016 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa, e se tratando de dados secundários já publicados, não foi submetido ao comitê de ética em pesquisa, ainda assim foi mantida a confidencialidade dos dados e resultados.

RESULTADOS

De 2005 a 2015 foram registrados 64.933 novos casos de tuberculose no estado da Bahia, onde foi observado que cerca de 65% dos casos correspondem ao sexo masculino (42.373), e 35% dos casos ao sexo feminino (22.408).

Na análise da diferença entre a média na taxa de incidência dos grupos masculino *versus* feminino, a cada 100.000 habitantes no estado da Bahia no período de 2005 a 2015, pode-se observar uma maior incidência estatisticamente significativa na população masculina, com uma diferença entre as médias de 273 casos/100.000 habitantes (Tabela 1).

Tabela 1 - Comparativo entre a média da taxa específica de incidência /100.000 habitantes por TB, masculino versus feminino (2005 a 2015) de acordo com o teste T.

	Média	DP	Diferença média	P Significância	de N
Masculino	502,2	± 98,8	273,0	0,0001	11
Feminino	229,1	± 53,1	273,0	0,0001	11

Os resultados obtidos demonstraram que o sexo masculino no estado da Bahia concentra a maior incidência por TB no período estudado, da mesma forma no Brasil esta doença também possui quase o dobro de incidência nos homens (49,6/100.00 habitantes) em relação às mulheres (24,6/100.000 habitantes) (JUNIOR; MENDES; ALMEIDA, 2015).

De acordo com o estudo de Baldan e colaboradores (2017), houve um maior predomínio de casos em indivíduos do sexo masculino (68,9%) por TB, mostrando também que pesquisas realizadas na região nordeste brasileira, no estado de Minas Gerais e na União Europeia apresentaram os mesmos resultados. Apesar de não estarem bem elucidados os motivos que levam os indivíduos do sexo masculino adoecer mais por TB do que as mulheres existem alguns fatores que direcionam para estes resultados, como exemplo, os fatores econômicos, culturais, sociais, condições biológicas e organizacionais, ou devido à inflexibilidade de horário de atendimento, o que dificulta o acesso dos trabalhadores as unidades de saúde, bem como a maior exposição ao *Mycobacterium tuberculosis*, ou ainda a possibilidade de uma maior procura de diagnóstico por parte da população feminina (COZER, et al., 2016; BALDAN, et al., 2017).

A caracterização sociodemográfica das pessoas com TB coinfectadas pelo HIV predomina os indivíduos adultos do sexo masculino. Outra provável explicação para o predomínio desta patologia nos homens encontra-se relacionado ao fato de serem mais vulneráveis a uma baixa imunidade, resultante do modo de vida social, bem como ao consumo de drogas lícitas e ilícitas, ou até mesmo a menor procura por estabelecimentos de saúde para prevenção e diagnóstico de doenças, e quando realiza a busca para o tratamento, este é feito tardiamente e possivelmente é abandonado (OLIVEIRA, et al.; 2017; ALVES, et al., 2017).

Os autores supracitados confirmam os resultados da pesquisa do presente estudo, demonstrando que, sem dúvida, o sexo masculino é o mais acometido pela TB. A estimativa apresentada baseia em estudos que foram realizados recentemente, apontando o sexo masculino

como o mais predisposto à infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*, servindo, deste modo para subsidiar a análise apresentada.

CONCLUSÃO

O estado da Bahia demonstrou que há um maior número de novos casos por TB nos homens comparando-se com as mulheres, no período de 2005 a 2015, fator este que é mais provável devido aos hábitos de vida do que ao sexo propriamente dito, apresentando se assim como um fator de risco não modificável. Esse fato auxilia os programas de saúde pública, para que se chame atenção da saúde masculina e possam ter uma maior procura de tratamento e profilaxia quanto à doença, para que assim esses números de casos possam vim a ser reduzidos.

REFERÊNCIAS

ALVES, B. et al.; TUBERCULOSE EM IDOSOS NA PARAÍBA, 2007 A 2016, **Editora Realize**, Congresso Internacional de Envelhecimento Humano – CIEH, 2017.

BALDAN, S. S. et al.; Características clínico-epidemiológicas da coinfeção por tuberculose e HIV e sua relação com o Índice de Desenvolvimento Humano no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, **Rev Pan-Amaz Saúde**, v. 8, n. 3, p. 59-67, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**. v. 49, n. 11. Brasília: Ministério da Saúde. 2018.

COZER, A. M. et al., Panorama epidemiológico da tuberculose no Brasil, **Rev. Educ. Saúde**, v. 4, n. 2, p. 43-50, 2016.

COZER, A. M. et al., Panorama epidemiológico da tuberculose no Brasil, **Rev. Educ. Saúde**, v. 4, n. 2, p. 43-50, 2016.

GOMES, T. **Tuberculose extrapulmonar: uma abordagem epidemiológica e molecular**, 2013, 117 f. (Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo) – Vitória, 2013.

JUNIOR, H. S. O.; MENDES, D. H. C.; ALMEIDA, R. B. PREVALÊNCIA DE CASOS DE TUBERCULOSE DURANTE OS ANOS DE 2002 A 2012, NO MUNICÍPIO DE PALMAS-PARANÁ, BRASIL, **Rev. Saúde Públ. Santa Cat**. v. 8, n. 1, p. 43-57, janeiro/abril, 2015.

LIMA, S. S. et al.; Análise espacial da tuberculose em Belém, estado do Pará, Brasil, **Rev Pan-Amaz Saúde**, v. 8, n. 2, p. 57-65, 2017.

OLIVEIRA, L. B. et al.; ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA COINFEÇÃO TUBERCULOSE/HIV, **Cogitare Enferm**, v. 23, n. 1, 2017.

PAULA, R. et al.; Por que os pacientes de tuberculose procuram as unidades de urgência e emergência para serem diagnosticados: um estudo de representação social, **REV BRAS EPIDEMIOL**, p. 600-614, 2014.

PEDRO, H. S. P. **Diversidade clínica, epidemiológica e genética do *Mycobacterium tuberculosis* na região Noroeste paulista**, 2015, 142 f. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), **Global Tuberculosis Report 2017**, 2017.

EXTRATOS DE PLANTAS DA CAATINGA NO CONTROLE BIOLÓGICO DE INSETOS: REVISÃO DE LITERATURA

Deivid Acauã Nascimento Moraes¹; Adnailma dos Santos Limoeiro¹; Jayelen Alves Ferreira¹; Virginia Michelle Svedese².

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, Pernambuco, Brasil, Graduando em Ciências Biológicas (UNIVASF).

²Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, Pernambuco, Brasil, Docente do curso Ciências Biológicas (UNIVASF).

RESUMO

O nordeste brasileiro apresenta em maior parte do seu território o ecossistema Caatinga, onde apresenta um patrimônio biológico bastante destacar algumas espécies de plantas que por terem propriedades inseticidas, podem atuar no controle biológico de determinadas pragas. O uso dos extratos dessas plantas como bioinseticidas é um meio que vêm sendo estudado como uma alternativa ao uso de agrotóxicos e associados a outros organismos podem atuar no manejo integrado de pragas, por apresentar fácil obtenção e utilização, além de baixo custo e redução dos problemas provocados pelos produtos químicos sintéticos. **Objetivo:** O presente trabalho objetivou realizar um levantamento bibliográfico sobre extratos de plantas da Caatinga que atuam no controle biológico de insetos. **Metodologia:** Levantamento dos dados foi realizado através da busca de artigos científicos publicados no período de 2008 à 2018, utilizando plataformas de pesquisa com o uso de palavras-chave. **Revisão:** Através da busca, obteve-se o total de cinco artigos científicos publicados, onde foi possível evidenciar cinco espécies de plantas da Caatinga que atuam no controle biológico de algumas espécies de insetos. **Conclusão:** É constatado o quanto são escassos os estudos de extratos de plantas da caatinga no controle biológico, sendo necessário mais estudo para o aperfeiçoamento do uso de inseticidas naturais.

Palavras-chave: Semiárido; Pragas; Inseticida natural.

INTRODUÇÃO

O uso de agroquímicos para o controle de pragas no setor agrícola tem acarretado incalculáveis problemas ambientais, que podem ser visualizados pela contaminação do solo, água, alimentos, animais, seres humanos, entre outros (PINHEIRO et al., 2017). A exposição humana a esses produtos tem constituído um dos mais graves problemas de saúde pública em todo o mundo, além de outras consequências negativas, tais como, ressurgência da praga, seleção de insetos resistentes, o desequilíbrio biológico, o desaparecimento de organismos benéficos e a redução da biodiversidade (RECENA; CALDAS, 2008; RIBEIRO et al., 2015; BARBOSA et al., 2015; VIANA et al., 2017).

Os impactos negativos causados pelos defensivos agrícolas à saúde humana e ao meio ambiente, levou a busca de estratégias para serem aplicadas no controle de pragas de forma sustentável e satisfatório (FERREIRA et al., 2014; TOMASETTO et al., 2017). O desenvolvimento de métodos e produtos com base natural foi apresentado como uma solução eficaz, pois, além de não causar nenhum dano à saúde humana e menor impacto ambiental, se mostraram eficientes no controle de pragas, possibilitando maior proteção, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica, sendo aplicados em programas integrados de controle de insetos (MORANDI; BETTIOL, 2008; MARANGONI; MOURA; GARCIA, 2012; SILVA; BRITO, 2015).

Dessa maneira, o controle biológico com plantas é uma técnica seletiva, afetando somente espécies que podem se tornar pragas ou agentes infecciosos, esse efeito é resultado da ação dos compostos secundários que apresentam ação inseticida e antimicrobiana (M ARANGONI; M OURA; GARCIA, 2012; SILVA et al., 2017). A flora brasileira, sobretudo as espécies da Caatinga, apresenta potencial para o controle de doenças em espécies vegetais, diante disso surge a necessidade de descoberta dos compostos bioativo dessas espécies, pois estudos da flora dessa região são escassos (BARROS; DE SOUZA; CAVALCANTI, 2015).

OBJETIVO

Efetuar um levantamento bibliográfico sobre o uso de extratos de plantas da caatinga no controle biológico de insetos.

METODOLOGIA

A seguinte revisão de literatura foi embasa em artigos científicos publicados entre 2008 e 2018, em diferentes plataformas eletrônicas. As plataformas utilizadas p a r a pesquisa, foram: ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>) e GoogleScholar (<https://scholar.google.com.br/>). Os resultados foram obtidos através da utilização das palavras-chave: extrato vegetal; vegetable extract; caatinga; biological control; controle biológico, gerando artigos em inglês e português.

REVISÃO

A escolha de plantas, como função inseticida, é devido aos estudos dos mecanismos de defesa das espécies vegetais, sendo assim, uma forma de abordagem segura e eficaz no controle biológico de pragas (MARANGONI; MOURA; GARCIA, 2012).

Dentre todos os ecossistemas, existem inúmeras espécies vegetais com potencial inseticida e a Caatinga possui espécies com grande potencial, levando em consideração a riqueza de metabólicos secundários, devido a notável sazonalidade desse bioma (SILVA et al., 2010). Na presente revisão, como observado no Quadro 1, poucas espécies vegetais estudadas, apenas cinco espécies distintas de plantas da caatinga no controle biológico de cinco insetos distintos. Esses dados foram retirados de cinco artigos encontrados durante o levantamento bibliográfico nas plataformas eletrônicas aplicando as palavras-chave na pesquisa.

As espécies *Croton blanchetianus* (Marmeleiro) e *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira) estão presentes em dois artigos, no controle biológico do *Mononychellus tanajoa* (Ácaro verde) e *Tetranychus bastosi* (Ácaro vermelho). A espécie vegetal *Ziziphus joazeiro* (Juazeiro) é a mais utilizada, presente em três artigos, obtendo ótimos resultados de 60- 63,3% da taxa de mortalidade, no controle biológico do *Mononychellus tanajoa* (Ácaro verde), 90% sobre *Tetranychus bastosi* (Ácaro vermelho), 17-81% em *Tetranychus ludeni* (Ácaro). Aparecem mais dois estudos utilizando *Croton linearifolius* e *Poincianella bracteosa* (Caatingueira), no controle do *Cochliomyia macellaria* (Mosca-varejeira) e *Aedes aegypti*, sendo o último inseto citado, de importância epidemiológica.

Quadro 1. Plantas da caatinga utilizadas no controle biológico dos insetos.

Planta	Inseto	Referencia
<i>Croton linearifolius</i>	<i>Cochliomyia macellaria</i>	SILVA et al. (2010)
<i>Croton blanchetianus</i>	<i>Mononychellus tanajoa</i>	DA SILVA SIQUEIRA et al.(2014)
<i>Myracrodruon urundeuva</i>		
<i>Ziziphus joazeiro</i>		
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	<i>Tetranychus bastosi</i>	XAVIER et al. (2015)
<i>Croton blanchetianus</i>		
<i>Ziziphus joazeiro</i>		
<i>Poincianella bracteosa</i>	<i>Aedes aegypti</i>	DOS SANTOS; DACRUZ; PRIMAVERA. (2015)
<i>Ziziphus joazeiro</i>	<i>Tetranychus ludeni</i>	FERRAZ et al. (2017)

CONCLUSÃO

Fica evidente a importância de estudos biotecnológicos na área de controle biológico, para obter uma medida segura, eficaz e de sustentabilidade no âmbito da agricultura, utilizando inseticida natural, como plantas da caatinga, assim evitando o uso de agrotóxico. O levantamento bibliográfico mostra o quanto é escasso estudos de extratos de plantas da caatinga no controle biológico, sendo necessário mais estudos para o aperfeiçoamento do uso de inseticidas naturais no ambiente e eventualmente a diminuição do uso de agrotóxico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, R. H. et al. Controle químico e biológico de *Mahanarva fimbriolata* Stål, 1854 (Hemiptera: Cercopidae) para regiões produtoras de cana-de-açúcar de Mato Grosso do Sul. **AMBIÊNCIA**, v. 11, n. 1, p. 247-251, 2015.

BARROS, J. S. G.; DE SOUZA G. E. C.; CAVALCANTI, L. S. Efeito de extratos de *Allamanda blanchetti* no controle de *Alternaria brassicicola* em mudas de couve-manteiga. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 36-46,2015.

DA SILVA SIQUEIRA, F. F. et al. Atividade acaricida de extratos aquosos de plantas de Caatinga sobre o ácaro verde da mandioca. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 4, p. 109-116, 2014.

DOS SANTOS, I. P. C.; DA CRUZ, R. C. D.; PRIM AVERA, P. Bioatividade de extratos aquosos da parte aérea de *Poincianella bracteosa* sobre larvas de *Aedes aegypti*.

ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.21; p.2908, 2015.

FERRAZ, J. C. B. et al. Extrato de folhas de juazeiro com atividade acaricida sobre o ácaro-vermelho em algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 7, p. 493-499, 2017.

FERREIRA, E. F.; SÃO JOSÉ, A. R.; BOMFIM, M. P.; PORTO, J. S.; JESUS, J. S.D. Use of plant extracts on control in vitro of *Colletotrichum gloeosporioides* penz. Collected in papaya fruits (*Caricapapaya*L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 346- 352, 2014.

MARANGONI, C.; DE MOURA, N.F., GARCIA, F.R.M. Utilização de óleo essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de ciências ambientais**, Canoas, v.6, n.2, p.95 a 112,2012.

MORANDI, M. A. B; BETTIOL, W. Integração de métodos biocompatíveis no manejo de doenças e pragas: experiências em plantas ornamentais e medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.33, p.31-34,2008.

PINHEIRO, A. I. et al. Potencial de contaminação em águas superficiais pelo uso de agrotóxicos em Iguatu, Ceará. **XVI Encontro Regional de Agroecologia do Nordeste**, v.1, n.1, 2017.

RECENA, M.C. P.; CALDAS, E. D. Risk perception, attitudes and practices on pesticide use among farmers of a city in Midwestern Brazil. **Revista de saúde pública**, v.42, n.2, p. 294-301,2008.

RIBEIRO, L. F. C. et al. Avaliação da eficiência do controle biológico associado ao químico no manejo das cigarrinhas-das-pastagens. **Revista Agrogeoambiental**, v. 8, n.2, 2015.

SILVA, S. L. C. E. et al. Bioatividade do extrato etanólico do caule de *Croton linearifolius* Mull.Arg.(Euphorbiaceae) sobre *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). **Acta Veterinaria Brasilica** (UFERSA), Mossoró, v. 4, n. 4, p. 252-258,2010.

SILVA, A. B.; BRITO, J. M. Controle biológico de insetos-pragas e suas perspectivas para o futuro. **Agropecuária Técnica**, v.36, n.1, p. 248-258,2015.

SILVA, A. G. et al. Mosca-Branca, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro: Características gerais, bioecologia e métodos de controle. **EntomoBrasilis**, v. 10, n. 1, p. 01-08, 2017.

TOMASETTO, F. et al. Intensified agriculture favors evolved resistance to biological control. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 15, p. 3885-3890, 2017.

VIANA, L. S. et al. Contextualizando a realidade do uso de agrotóxicos na agricultura familiar. **Extensão em Ação**, v. 1, n. 13, p. 54-68, 2017.

XAVIER, M. V. A. et al. Toxicidade e repelência de extratos de plantas da caatinga sobre *Tetranychus bastosi* Tutler, Baker & Sales (Acari: Tetranychidae) em pinhão-manso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, supl I, p. 790-797,2015.

RUBRICITOSE EM CÃES E GATOS: REVISÃO DE LITERATURA

Vanessa Maranhão Soares¹, Sinara Fernanda Souza da Silva¹, Lucilo Bioni da Fonsêca Filho², Alane Barbara Patriota Nogueira¹, Elizabeth Pereira Souza¹, Priscilla Virginio de Albuquerque³, Gilcifran Prestes de Andrade³, Júlio César dos Santos Nascimento⁴.

1 Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Maurício de Nassau, Recife-PE, Brasil.

2 Mestrando da Universidade Federal Rural de Pernambuco, programa de Ciência Animal Tropical.

3Doutorando da Universidade Federal Rural de Pernambuco, programa de Ciência Animal Tropical.

4Professor adjunto da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

Resumo: Introdução: A rubricitose ocorre quando há elevação da concentração de eritrócitos nucleados na corrente sanguínea. Diversas patologias estão associadas à rubricitose e o conhecimento sobre a sua fisiopatogenia é de grande importância para o estabelecimento do diagnóstico, tratamento e prognóstico dessas enfermidades. Objetivos: Esta revisão tem como objetivo fornecer dados acerca da fisiopatogenia da rubricitose em cães e gatos. Metodologia: Para a realização desta revisão bibliográfica, foi realizada pesquisa por livros e artigos científicos nos bancos de dados do Google Acadêmico, Scielo, PubMed e Lilacs. Revisão de Literatura: A maturação das células sanguíneas ocorre na seguinte ordem de maturação: rubriblastos, pró-rubricitos, rubricitos, metarrubricitos, reticulócitos e eritrócitos maduros. A principais células componentes da rubricitose são os metarrubricitos e rubricitos, raramente ocorrendo a presença de precursores mais jovens. A presença dessas células nucleadas raramente ocorre em animais saudáveis. Diversas patologias ocasionam a rubricitose, a qual pode ser dividida em apropriada ou inapropriada dependendo da presença ou ausência de reticulócitos, respectivamente. A rubricitose apropriada geralmente está associada a intensa eritropoiese sendo causada por anemias hemolíticas e imunomediadas ou doenças cardiopulmonares. A rubricitose inapropriada geralmente associa-se a intensas alterações funcionais e estruturais da medula óssea que geram extensas lesões medulares. Conclusão: Diversas patologias ocasionam a rubricitose, porém, os mecanismos para elevação desses eritrócitos nucleados diferem bastante. A compreensão dos variados mecanismos causadores de rubricitose é essencial para se estabelecer um correto diagnóstico e tratamento dos pacientes.

Palavras-chave: eritrócitos nucleados, eritropoiese, medula óssea.

INTRODUÇÃO

A rubricitose é a elevação da concentração de eritrócitos nucleados na corrente sanguínea. Os eritrócitos nucleados são compostos pelos rubriblastos, pró-rubricitos, rubricitos e metarrubricitos (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Os rubriblastos são os primeiros precursores de eritrócitos morfológicamente reconhecidos (REAGAN et al., 2008). Os metarrubricitos são os últimos no estágio nucleado da série eritróide (BARGER; MACNEILL, 2017). Após a perda do núcleo, os metarrubricitos darão origem aos reticulócitos, eritrócitos imaturos, e que, posteriormente, darão origem aos eritrócitos maduros (HARVEY, 2001; STOCKHAM; SCOTT, 2011; HARVEY, 2012). A maturação dos reticulócitos começa na medula óssea e é completada no sangue periférico e no baço em cães e gatos (HARVEY, 2001). A rubricitose é dividida em rubricitose apropriada e rubricitose inapropriada.

A primeira ocorre quando há anemias regenerativas, onde há a presença de reticulócitos. A segunda ocorre quando há anemias arregenerativas, onde há ausência de reticulócitos, ou quando não há anemia (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Muitas patologias estão associadas à rubricitose e o conhecimento sobre a sua fisiopatogenia, assim como a sua diferenciação em rubricitose apropriada ou inapropriada é imprescindível para o diagnóstico, tratamento e prognóstico de diversas enfermidades.

OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica acerca da fisiopatogenia da rubricitose em cães e gatos.

METODOLOGIA

O presente trabalho caracteriza-se por um estudo bibliográfico realizado pela seleção de artigos científicos nos bancos de dados digitais do Google Acadêmico, PubMed, SCIELO e LILACS. Os descritores utilizados incluíram “Rubricytosis”, “Rubriblast”, “Prorubriblast”, “Rubricyte”, “Metarrubricyte” e “NucleatedErythrocytes”. Também foram consultados livros de hematologia e patologia clínica veterinária.

REVISÃO

Os estágios de desenvolvimento da série eritróide, de imaturo a maduro, denominam-se na ordem em rubriblastos, pró-rubricitos, rubricitos, metarrubricitos, reticulócitos e eritrócitos maduros (THRALL et al., 2012). As alterações morfológicas que ocorrem quando as células da série eritróide sofrem a maturação incluem diminuição do tamanho, diminuição da relação núcleo: citoplasma, condensação nuclear progressiva e aumento da coloração avermelhada da célula (HARVEY, 2001; WEISS; WARDROP 2010). A presença de grandes quantidades de ribossomos e poliribossomos basófilos dão a coloração azulada ao citoplasma das células. A medida que ocorre o amadurecimento celular há a síntese de hemoglobina modificando a coloração do citoplasma de azul para vermelho (HARVEY, 2012).

O rubriblasto é uma célula grande com núcleo proeminente e centralizado. A cromatina é granular e pode apresentar um ou mais nucléolos. O citoplasma possui coloração azul profunda. O pró-rubricito é um pouco menor, nucléolos mais discretos ou ausentes e cromatina mais grosseira. O citoplasma possui coloração azul menos intenso. Os rubricitos são ainda menores, a cromatina é mais condensada e o citoplasma caracteriza-se por uma mudança de cor progressiva para avermelhado. Os rubricitos podem ser divididos em basofílicos e policromatofílicos baseado na coloração do citoplasma. O metarrubricito é ainda menor e o seu núcleo possui cromatina muito condensada. Há ausência de organelas e seu citoplasma possui coloração azul à avermelhada. O núcleo será extrusado, transformando a célula em reticulócito. No estágio de metarrubricito não há mais mitose, ocorrendo apenas a maturação das células (REAGAN et al., 2008; WEISS; WARDROP 2010; THRALL et al., 2012; BARGER; MACNEILL, 2017).

A hematopoiese ocorre na medula óssea e é estimulada por um complexo sistema que envolve diversas citocinas e a eritropoietina. Essas substâncias atuam estimulando a replicação e diferenciação das células tronco hematopoiéticas que darão origem aos rubriblastos. A eritropoietina é produzida nos rins, e a sua síntese é estimulada em resposta à hipóxia renal (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Outro componente importante na hematopoiese é a barreira hemato-óssea. Essa barreira é composta por diversas células que tem a finalidade de impedir que eritrócitos nucleados cheguem a corrente sanguínea. Essas células possuem receptores que se aderem aos eritrócitos imaturos e impedem a sua saída da medula óssea. A medida que as células amadurecem ocorre a mudança nesses receptores e diminuição da sua aderência, permitindo a sua liberação para a circulação (WEISS; WARDROP 2010). Além disso, as células eritróides imaturas, diferentemente das células maduras, são pouco deformáveis. A flexibilidade dos eritrócitos é importante para que estes consigam atravessar as junções endoteliais dos sinusóides e alcancem a corrente sanguínea. Assim, os eritrócitos nucleados são impedidos de alcançar a circulação, e a sua presença no sangue periférico pode ser indicativo de ruptura da barreira hemato-óssea ou hematopoiese extramedular (CONSTANTINO; COGIONIS, 2000).

A hematopoiese extramedular é caracterizada pela produção de células eritróides fora da medula óssea devido a fuga de células tronco hematopoiéticas para outros tecidos (CONSTANTINO; COGIONIS, 2000; YAMAMOTO et al., 2016). Os principais órgãos acometidos incluem fígado, baço e nódulos linfáticos. Todavia, em outros locais como o coração, adrenal, rins, tecido adiposo, periósteo e cavidade pleural também pode ocorrer a síntese da linhagem eritróide (TOCHETTO et al., 2011; YAMAMOTO et al., 2016). A hematopoiese extramedular geralmente é encontrada secundária a outras desordens como falha da medula óssea, excessiva estimulação hematopoiética, inflamação tecidual, anemia, leucemia aguda e processos infiltrativos (CONSTANTINO; COGIONIS, 2000; TOCHETTO et al., 2011; YAMAMOTO et al., 2016). A presença de eritrócitos nucleados na corrente sanguínea na hematopoiese extramedular ocorre, pois, os novos órgãos produtores dessas células não possuem uma barreira semelhante à barreira hemato-óssea, assim, ocorre maior liberação de precursores eritróides na circulação (CONSTANTINO; COGIONIS, 2000; TOCHETTO et al., 2011; BEN-OZ et al., 2014).

Durante a rubricitose a maioria das células extravasadas para a corrente sanguínea são compostas pelos metarrubricitos ocorrendo poucos rubricitos e raramente células precursoras mais jovens são encontradas (VALENIANO et al., 2014). Os rubriblastos e prorubricitos geralmente não excedem 5% de todas as células nucleadas. A presença de células nucleadas na circulação raramente ocorre nos mamíferos adultos saudáveis (HARVEY, 2001).

A rubricitose apropriada geralmente ocorre quando há eritropoiese acelerada (STOCKHAM; SCOTT, 2011). As células mais presentes na rubricitose apropriada são os metarrubricitos (HARVEY, 2012). Contudo, os rubriblastos podem ser observados em anemias fortemente regenerativas, porém essa condição é rara (VALENIANO et al., 2014). Durante uma anemia regenerativa, há o aumento da demanda por glóbulos vermelhos, ocorrendo a diminuição da superfície celular da barreira hemato-óssea, menor ligação às células jovens, permitindo que ocorra uma maior liberação dos eritrócitos nucleados (WEISS; WARDROP 2010). A quantidade de eritrócitos nucleados liberados depende da gravidade da anemia e da resposta medular. Uma resposta medular exagerada ocasiona uma elevação abundante na concentração dos eritrócitos nucleados e reticulócitos. Em todos os tipos de anemia ocorre a eritropoiese compensatória induzida pela hipóxia. Os rins produzem eritropoietina que irá resultar em intensa atividade eritropoiética da medula (CONSTANTINO; COGIONIS, 2000). Algumas afecções que ocasionam a rubricitose apropriada incluem as anemias imunomediadas, anemias hemolíticas, traumas, doenças cardíacas e pulmonares. A rubricitose nas doenças cardiovasculares e

pulmonares ocorre secundário à hipóxia e nos traumas devido ao extravasamento das células para a circulação pelas fraturas ósseas (BEN-OZ et al., 2014; VALENIANO et al., 2014).

A rubricitose inapropriada geralmente ocorre quando há alterações funcionais e estruturais na medula óssea, promovendo a liberação prematura dos eritrócitos (BEN-OZ et al., 2014). Os distúrbios que ocasionam o extravasamento dessas células incluem medula lesada por necrose, inflamação, endotoxemia, infecção, hipóxia, hipertermia, envenenamento, mielodisplasia, neoplasias, administrações de drogas, quimioterápicos, mielofibrose, hipertermia, distúrbios linfó e mieloproliferativos, distúrbios diseritropoiéticos hereditários e intoxicação por chumbo (HARVEY, 2001; STOCKHAM; SCOTT, 2011; HARVEY, 2012; BEN-OZ et al., 2014; MAXIE, 2016). Os eritrócitos adentram a corrente sanguínea devido ao dano ocasionado ao endotélio sinusóide e a pressão do tecido hematopoiético na medula faz com que as células escapem para a circulação (STOCKHAM; SCOTT, 2011; VALENIANO et al., 2014). As células que conseguem escapar da medula são eliminadas pelos macrófagos esplênicos (BEN-OZ et al., 2014). Todavia, quando ocorre elevada concentração dessas células ou há hipoesplenismo, o baço se encontrará sobrecarregado e os macrófagos não conseguirão eliminar os eritrócitos nucleados (CONSTANTINO; COGIONIS, 2000). O hipoesplenismo é resultado de lesões por traumas, neoplasias ou inflamação (BEN-OZ et al., 2014). A esplenectomia também pode levar à rubricitose devido a não captura das poucas células nucleadas liberadas pela medula óssea pelos macrófagos (STOCKHAM; SCOTT, 2011). A hematopoiese extramedular, realizada pelo baço, também pode ocasionar a liberação dessas células nucleadas quando ocorre a contração esplênica (STOCKHAM; SCOTT, 2011; VALENIANO et al., 2014). A mielofibrose, decorrente de neoplasias ou lesão por agentes infecciosos, ocasiona a alteração da arquitetura normal da medula, levando a ruptura da barreira hemato-óssea e causando a liberação desordenada das células progenitoras eritróides (CONSTANTINO; COGIONIS, 2000).

Outras afecções como uremia, sepse, doenças hepáticas e injúria térmica ocasionam a rubricitose. Todavia, sua patogenia é desconhecida. Sugere-se que essas afecções ocasionam a ruptura da barreira hemato-óssea, porém a causa para tal ruptura permanece desconhecida (CONSTANTINO; COGIONIS, 2000).

CONCLUSÃO

Uma grande variedade de patologias ocasionam a rubricitose. Todavia, os mecanismos para que ocorra a elevação da concentração dos eritrócitos nucleados nessas enfermidades são variados. O conhecimento sobre a fisiopatogenia da rubricitose nas diversas doenças é essencial para se estabelecer um correto diagnóstico e tratamento.

REFERÊNCIAS

BARGER, A. W.; MACNEILL, A. L. **Small animal cytologic diagnosis**. 1.ed. Roca Raton: CRC Press, 2017.

BEN-OZ, J. et al. Peripheral nucleated red blood cells in cats and their association with age, laboratory findings, diseases, morbidity and mortality: A retrospective case-control study. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v.69, n.4, p.182-191, 2014.

CONSTANTINO, B. T.; COGIONIS, B. Nucleated RBCs: Significance in the peripheral blood film. **Laboratory Medicine**, v.31, n.4, p.223-229, 2000.

HARVEY, J. W. **Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals**. 1.ed. China: Saunders. 2001.

HARVEY, J. W. **Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas**. 1.ed. Missouri: Elsevier, 2012.

MAXIE, M. G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals**. 6.ed. Missouri: Elsevier, 2016.

REAGAN, W. J.; ROVIRA, A. R. I.; DENICOLA, D. B. **Veterinary hematology: atlas of domestic and non-domestic species**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2008.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: GEN, 2011.

THRALL, M. A. et al. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2012.

TOCHETTO, C. et al. Aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da leucemia eritróide aguda em gatos. **Pesq.Vet. Bras**, v.31, n.7, p.610-619, 2011.

VALENCIANO, A. C. et al. **Atlas of canine and feline peripheral blood and smears**. 1.ed. Riverport: Elsevier, 2014.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.

YAMAMOTO, K. et al. Extramedullary hematopoiesis: elucidating the function of the hematopoietic stem cell niche (Review). **Molecular Medicine Reports**, v.13, p.587-591, 2016.

POTENCIAL CITOTÓXICO DAS PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC) NO CARCINOMA CERVICAL

Ívina Albuquerque da Silva¹, Eliane Campos Coimbra²

Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial¹; Universidade de Pernambuco².

RESUMO

PANC são fontes de nutrientes e metabólitos secundários importantes capazes de atuarem na manutenção da saúde. Muitas destas plantas fornecem compostos que atuam na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Dentre as DCNT ocorrentes no Brasil, destaca-se o câncer, sendo o câncer cervical o terceiro tipo de câncer de maior ocorrência entre as mulheres. Muitos são os estudos que demonstraram que as plantas alimentícias não convencionais podem não somente prevenir, mas também interferir na evolução do quadro de muitos cânceres que acometem o ser humano, inclusive o câncer de colo do útero. Este estudo objetiva identificar as PANC ocorrentes na Região Metropolitana do Recife, capazes de apresentar atividade citotóxica mais efetiva contra linhagens de células de carcinoma cervical (HeLa). Para tanto, foi realizada uma ampla revisão bibliográfica em relação às PANC identificadas na Região Metropolitana do Recife, cujas informações foram cruzadas com outros estudos sobre as mesmas plantas, nas quais objetivaram investigar a atividade citotóxica de cada uma dessas espécies contra HeLa. Embora muitas espécies de plantas alimentícias não convencionais tenham sido identificadas na Região Metropolitana, apenas três espécies apresentaram atividade citotóxica significativa contra o carcinoma cervical: *Conyza bonariensis*, *Hedychium coronarium* e *Portulaca oleracea*. Entretanto, para esta última, foi necessário sulfatar os polissacarídeos solúveis em água obtidos através da planta para melhorar sua citotoxicidade em células tumorais. Estas espécies podem fornecer extratos capazes de auxiliar na busca por novos agentes antineoplásicos para o carcinoma cervical.

Palavras-Chave: Carcinoma Cervical, Citotoxicidade, DCNT, HeLa, PANC.

INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como as doenças cardiovasculares, respiratórias e câncer, são as causas da maioria dos óbitos no mundo e estão relacionadas com a ocorrência de mortes prematuras, perda na qualidade de vida e grandes impactos econômicos, sendo o câncer responsável por 16,3% dos casos de DCNT que geram óbito no Brasil (MALTA, NETO, JÚNIOR, 2011). Devido a relevância, pesquisas científicas vêm sendo realizadas no intuito de colaborar com a prevenção e interferência no processo de formação destas doenças.

Neste sentido, as plantas alimentícias não convencionais (cujo consumo é negligenciado pela maioria da população) emergem como uma interessante proposta de intervenção na evolução de doenças crônicas não transmissíveis, visto que, são plantas capazes de fornecerem não somente uma grande quantidade de nutrientes imprescindíveis para o bom funcionamento do corpo humano, como também são dotados de compostos bioativos importantes capazes de prevenir e/ou interromperem a evolução de algumas dessas DCNT, além de apresentarem

atividade citotóxica contra variados tipos de cânceres, inclusive o do colo do útero (VIANA, 2013).

OBJETIVOS

O presente trabalho busca identificar as principais plantas alimentícias não convencionais ocorrentes na Região Metropolitana do Recife, avaliando o potencial citotóxico que estas plantas possuem contra linhagem de células do carcinoma cervical.

METODOLOGIA

Foi realizada uma ampla revisão bibliográfica em relação às PANC ocorrentes na Região Metropolitana do Recife - PE, com a finalidade de identificar as espécies que apresentaram melhores atividades citotóxicas diante de linhagens de células de carcinoma cervical. A pesquisa de artigos científicos foi realizada nas bases de dados: Medline (Biblioteca virtual em saúde), Lilacs, Scielo (Scientific electronic library online) e NCBI. Os termos utilizados no levantamento incluíram: “PANC”, “câncer cervical”, “HeLa”, “citotoxicidade”. Deu-se preferência para os dados coletados de textos publicados entre as datas de 2008 a 2018.

REVISÃO

As Plantas Alimentícias não Convencionais são as espécies de plantas detentoras de uma ou mais partes com potencial alimentício, mas que passaram a ser subutilizadas ou entraram em desuso pela maioria da população (KINUPP; LORENZI, 2014). Muitas dessas plantas são silvestres, e justamente devido a este fator, são mais abundantes em minerais, fibras, proteínas e compostos bioativos, quando comparadas às culturas domesticadas amplamente consumidas na dieta humana (KINUPP; BARROS, 2008; VIANA, 2013). Alguns compostos bioativos fornecidos por estas PANC foram descritos como elementos potenciais de atuação na prevenção ou interferência na evolução de alguns quadros de doenças crônicas não transmissíveis, como o câncer.

Entre as doenças crônicas não transmissíveis que mais acometem os seres humanos, o câncer possui grande relevância, responsável por 16,3% dos óbitos por DCNT no Brasil (MALTA, NETO, JÚNIOR, 2011). Entre os tipos de cânceres ocorrentes no país, o câncer do colo do útero é a terceira neoplasia de maior incidência em mulheres, segundo dados do INCA (2015).

Embora muitas espécies de PANC sejam subutilizadas na alimentação humana, seu uso na medicina popular é mais facilmente difundido, sendo muitas delas utilizadas como diuréticos, digestivos, analgésico, anti-inflamatórios, bem como no tratamento de reumatismo, gota, cistite, etc (KINUPP; LORENZI, 2014; ARAUJO et al., 2013). Estudos científicos investigaram o potencial medicinal de algumas dessas plantas que, mais tarde, comprovaram suas efetividades medicinais, podendo muitas delas auxiliar no tratamento e prevenção de algumas DCNT, além de apresentarem atividade antitumoral diante de vários tipos de cânceres (CHANMEE et al., 2013; THABIT et al., 2014).

Na Região Metropolitana do Recife, há ocorrência de algumas espécies alimentícias dotadas de atividade citotóxica, entre elas: *Amaranthus deflexus*, *Piper marginatum*, *Alternanthera tenella*, *Solanum stramonifolium*, entre outras. Entretanto, as espécies que apresentaram atividade citotóxica mais acentuada diante das linhagens de células de carcinoma cervical foram as espécies *Conyza bonariensis*, *Hedychium coronarium* e *Portulaca oleracea*.

C. bonariensis é uma herbácea, cuja folhagem pode ser utilizada na culinária sob a forma refogada, crua ou como especiarias, devido ao seu teor picante (KINUPP; LORENZI, 2014). Estudos avaliaram as atividades citotóxicas do óleo essencial de *C. bonariensis* coletados em Mérida, na Venezuela. O óleo essencial de *C. bonariensis* foi avaliado *in vitro* contra um painel representativo de células tumorais cervicais (HeLa), mostrando-se ativo contra este tipo de linhagem celular (IC50 1,41 µg / ml), após 48 h de exposição (ARAUJO, et al., 2013). Corroborando com a atividade citotóxica presente nas folhas de *C. bonariensis*, outro estudo executado no Egito demonstrou uma atividade citotóxica significativa contra HeLa (IC50: 5,4 vs. 18 µg / ml) utilizando-se o extrato etanólico da planta (ZALABANI; HETTA; ISMAIL, 2012).

Hedychium coronarium, também conhecida como Lírio do Brejo é outra espécie alimentícia considerada PANC em Pernambuco, ocorrente no estado. Esta planta possui um rizoma palatável e muito apreciado pela culinária asiática, apresentando um sabor semelhante ao gengibre. Estudos científicos sugerem que o rizoma de *H. coronarium* possui compostos bioativos dotado de propriedades imunomoduladoras, anti-inflamatórias, além de apresentar atividade citotóxica contra linhagens de células de variados tipos de cânceres. Esta espécie possui um composto denominado coronarina B que demonstrou notável citotoxicidade contra a linhagem de células HeLa, apresentando IC50 de 2,7 µg / ml (CHIMNOI et al., 2009).

Além disso, derivados sulfatados de polissacarídeos solúveis em água (POP1) presentes em *Portulaca oleracea* foram descritos como efetivos contra HeLa. O estudo em questão demonstrou que o tratamento desses derivados sulfatados com células HeLa poderia mediar a parada do ciclo celular na fase S. Desta forma, a sulfatação dos POP1 pode melhorar a citotoxicidade do composto diante de células tumorais (CHEN et al., 2010).

P. oleracea é conhecida como Beldroega, uma espécie de PANC cujo consumo não é tão comum no estado de Pernambuco. Entretanto, esta hortaliça possui folhas e hastes que podem ser consumidas cruas em saladas, omeletes, empanados, bolinhos fritos, entre outros (MADEIRA; BOTREL, 2016).

CONCLUSÃO

As PANC que fazem parte do presente trabalho apresentam uma significativa atividade citotóxica contra linhagem de células de carcinoma cervical (HeLa). Estas espécies podem fornecer extratos capazes de colaborar com a investigação de novos elementos antineoplásicos direcionados para o combate do carcinoma cervical.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, L. et al. Chemical composition and biological activity of *Conyza bonariensis* essential oil collected in Mérida, Venezuela. **Natural product communications**, v. 8, n. 8, p. 1175-1178, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Instituto Nacional de Câncer: Estimativa 2016**. Brasília: INCA, 2015, 124p.
- CHANMEE, W.; CHAICHAROENPONG, C.; PETSOM, A. Lipase inhibitor from fruits of *Solanum stramonifolium* Jacq. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, Índia, v. 2, n. 2, p. 146–154. 2013.

CHEN, T. et al. Sulfated modification and cytotoxicity of *Portulaca oleracea* L. polysaccharides. **Glycoconjugate journal**, v. 27, n. 6, p. 635-642, 2010.

CHIMNOI, N. et al. Phytochemical reinvestigation of labdane-type diterpenes and their cytotoxicity from the rhizomes of *Hedychium coronarium*. **Phytochemistry Letters**, v. 2, n. 4, p. 184-187, 2009.

KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 846-857, 2008.

KINUPP, V. F. LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. 1 ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2014. 768 p.

MADEIRA, N. R.; BOTREL, N. *Portulaca oleracea*: beldroega. In: VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste**. 1ed. Brasília: Embrapa Hortaliças. 2016. p. 290-293.

MALTA, D. C.; NETO, O. L. M.; JUNIOR, J. B. S. Apresentação do plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis no Brasil, 2011 a 2022. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 425-438, 2011.

THABIT, R. A. S. et al. Antioxidant and *Conyza bonariensis* : a review. **European Academic Research**, Bucharest, v. 2, n. 6, p. 8454–8474. 2014.

VIANA, M. M. S. **Potencial nutricional, antioxidante e atividade biológica de hortaliças não convencionais**. 2013. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas.

ZALABANI, S. M.; HETTA, M. H.; ISMAIL, A. S. Genetic profiling, chemical characterization and biological evaluation of two *Conyza* species growing in Egypt. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Cairo, v. 2, n. 11, p. 54, 2012.

RESUMOS SIMPLES

SENSIBILIDADE DA *Escherichia coli* A AMPICILINA EM PACIENTES COM INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Emanuelle Maria da Silva¹, Maria José Bernardo da Silva Filha¹, Crislayne Gonçalo de Santana Marinho¹, Indrig Prata Mendonça¹, Manuela Correia Dionísio¹

¹Universidade Federal de Pernambuco-UFPE

As infecções do trato urinário (ITU) compreendem doenças extremamente frequentes que ocorrem em todas as idades e que podem ser causadas por diversos microorganismos, em especial a enterobactéria *Escherichia coli*. As altas taxas de pacientes com ITU recorrentes e o aumento de linhagens de bactérias resistentes fazem com que essas infecções resultem em grande preocupação para saúde pública. Diante disso, o conhecimento do padrão de sensibilidade dos agentes causais de ITU cresce em importância e permite orientar a conduta terapêutica adequada. Assim, considerando a ampicilina uma droga de primeira escolha em grande parte dos casos, essa revisão de literatura teve como objetivo avaliar a sensibilidade da *E. coli* frente ao antibiótico supracitado. Para o alcance de tal objetivo foram selecionados cinco artigos disponíveis nos bancos de dados da Biblioteca Científica Eletrônica Virtual (SciELO), Biblioteca Médica (MEDLINE) e Google Acadêmico, contemplando estudos publicados entre os anos 2012 e 2018. Foram consultados artigos originais e de revisão sobre o tema, utilizando os descritores: infecção do trato urinário, *Escherichia coli* resistente, resistência bacteriana no trato urinário e resistência a antimicrobianos. Com base na literatura, os dados das amostras de urocultura foram retirados de relatórios diários de laboratórios de análises clínicas, os quais tiveram suas amostras submetidas a avaliação de sensibilidade a antimicrobianos pela técnica de disco-difusão. Os estudos consideraram amostras de origem hospitalar e comunitária, e seus resultados demonstraram que as bactérias isoladas de pacientes hospitalizados foram mais resistentes a ampicilina que as de infecções oriundas do ambulatório, apresentando perfil de resistência próximo de 80% no primeiro caso e 65% no segundo. Assim, o antibiótico em questão demonstrou baixa sensibilidade em geral, indicando que seu uso deve ser recomendado somente após a liberação do resultado do antibiograma, conduta que favorece o sucesso na terapia e reduz o crescimento da resistência a antimicrobianos.

Palavras-chave: resistência bacteriana; *Escherichia coli*; antibióticos.

PpeL, CrataBL, CfePL: APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DE LECTINAS BIOATIVAS ISOLADAS DE PLANTAS

Geovanna Oliveira Carneiro¹; Carlos Eduardo Sales da Silva¹; Maria Tereza dos Santos Correia¹; Marília Cavalcanti Coriolano¹.

¹Laboratório de Bioproteínas, Departamento de Bioquímica / Centro de Biociências –
Universidade Federal de Pernambuco

As lectinas são proteínas de origem não imune com uma ampla distribuição na natureza, que reconhecem e ligam-se reversivelmente aos carboidratos e glicoconjugados livres ou ligados à superfície das células através de sítio de ligação específica. Nas plantas, as lectinas estão presentes em vários tecidos como sementes, folhas, flores, cascas, rizomas, cerne e raízes, e possuem diferentes propriedades biológicas das quais é possível destacar: atividades antitumoral, antifúngica, imunomodulatória, antibacteriana e inseticida. A pretensão desse estudo é realizar uma revisão da bioprospecção e aplicações biotecnológicas de lectinas bioativas isoladas de plantas como PpeL, CrataBL e CfePL. PpeL, lectina isolada a partir de sementes de *Parkia pendula*, demonstrou potencial utilidade como marcador histoquímico de alterações neoplásicas da mama, sendo também capaz de estimular o processo cicatricial tanto em animais com saúde normal, como em animais imunossuprimidos. CrataBL, lectina isolada da entrecasca de *Crataeva tapia*, apresentou atividades anticoagulante, analgésica, antiinflamatória e antitumoral. A lectina purificada da vagem de *Caesalpinia ferrea* revelou propriedades antimicrobianas e antifúngicas de amplo espectro, podendo ser considerada um potente agente antimicrobiano. O desenvolvimento de novas moléculas alvo-específicas capazes de restringir ou até mesmo eliminar certas patologias tem se tornado de grande importância. Assim, avanços recentes mostram que a interação lectina-carboidrato da superfície celular em processos biológicos, têm motivado a obtenção de lectinas, através de métodos cromatográficos de purificação, para a busca de autênticos compostos candidatos a novos fármacos naturais.

A PREVALÊNCIA E VARIÁVEIS SOCIODEMOGRÁFICAS RELACIONADAS COM A AUTOMEDICAÇÃO

Léony Soares de Oliveira¹; Geovanna Hachyra Facundo Guedes¹; Jennyfer Martins de Carvalho¹; José Anderson da Silva Gomes¹; Marianne de Araújo Mendes¹; Maria Luísa Figueira de Oliveira¹; Milena Martins Perdigão¹; Valéria Bianca de Souza Santos¹;

¹Graduandos em Biomedicina, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

Por volta do século XIX, a maioria dos compostos medicamentosos eram de origem natural, e suas estruturas químicas, mecanismos de ação e efeitos colaterais ainda eram desconhecidos. Devido aos avanços da tecnologia e das pesquisas, novos compostos foram encontrados e muitas dúvidas foram esclarecidas aumentando a eficiência dos fármacos. Assim o papel do medicamento foi visto como central para um bom tratamento. Em adição se tornou cada vez mais fácil adquirir medicamentos sem receita médica. Em estudos realizados na Europa se observou que, o uso de antimicrobianos de forma desregrada pela população, se reflete diretamente com o aumento da resistência bacteriana. Além disso, essa prática pode levar outros efeitos, como a dependência química, reações de toxicidade e encobrimento de patologias. Diante dessa problemática o presente estudo tem como principal objetivo, desenvolver uma pesquisa acerca da automedicação e fatores sociodemográficos relacionados, identificando as motivações sociais. Os dados do estudo foram obtidos através de um questionário em uma plataforma virtual com divulgação através de redes sociais. Os participantes responderam perguntas relacionadas ao sexo, idade, escolaridade, renda e acesso ao serviço de saúde. Foi observado que a maior parte dos indivíduos faz uso indiscriminado de medicamentos e apresentam nível superior de escolaridade. Mais da metade das pessoas adquirem medicamentos, que necessitam de prescrição, com muita facilidade. Constatou-se também que a maior parte dos indivíduos não estão satisfeitos com o Sistema Único de Saúde (SUS), tendo como principal reclamação a demora para o atendimento e má qualidade dos serviços. Sendo esse fator a principal causa para a automedicação. Sendo a automedicação um fator ocasionado por diversos aspectos, que geram problemáticas sociais e de saúde, ela deve ser combatida através da conscientização, mas também pelo controle mais efetivo da venda indiscriminada de medicamentos sem prescrição médica.

Palavras-chave: automedicação, fatores sociodemográficos, prescrição médica.

ANÁLISE DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

Ana Laura Silva Cardoso¹ Gildeanes Silva do Carmo¹

¹ Faculdade Sete de Setembro – FASETE

A leucemia mielóide aguda (LMA) é uma neoplasia na qual as células precursoras hematológicas sofrem inúmeras mutações, ocasionando em deficiência da medula óssea na produção de células sanguíneas (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas) suficientes para a corrente sanguínea. A LMA acomete principalmente adultos mais velhos, sendo mais rara antes dos 45 anos de idade. Abordar as principais análises de diagnósticos laboratoriais para a LMA, e assim avaliar os principais exames precisos no diagnóstico da doença. Utilizou-se o método qualitativo de pesquisa, utilizando a investigação da LMA através de revistas, livros, jornais e artigos científicos. A leucemia é uma neoplasia de várias linhagens (mielóide e linfóide), ambas possuem características agudas e crônicas, desta maneira, as agudas apresentam mais agressividades, no entanto, são mais descomplicadas para a obtenção da cura, as crônicas são menos agressivas, contudo a sua remissão completa não tem grande sucesso. O diagnóstico laboratorial da LMA é acompanhado de várias etapas, nos quais uma delas é a realização do hemograma, em que ao ser encontrado um número de blastos superior à 20 considera-se suspeito para LMA, sendo assim confirmado com um mielograma. Também se realiza exames de imunofenotipagem na qual se utiliza anticorpos monoclonais, em que auxiliam na identificação de antígenos nas linhagens hematopoéticas. A reação em cadeia da polimerase (PCR) também pode ser utilizada no diagnóstico da LMA, em que o exame amplifica o DNA para a pesquisa de moléculas, podendo detectar uma célula leucêmica entre milhares de células normais. Portanto, diante dos principais diagnósticos abordados, as análises citogenéticas e moleculares (PCR, imunofenotipagem), oferecem um diagnóstico com melhor precisão, favorecendo ao indivíduo um diagnóstico precoce, e um tratamento adequado à gravidade da doença, resultando assim em um prognóstico de sobrevida melhor.

Palavras chaves: leucemia mielóide aguda, diagnóstico, exames laboratoriais.

ANÁLISE DOS OVÓCITOS DO *Phragmatopoma caudata* UTILIZANDO A TÉCNICA HISTOLÓGICA DO PAS

Maria Gabriela Vieira Oliveira da Silva¹; Mônica Simões Florêncio¹; Betty Rose de Araújo Luz¹; Júlio Brando Messias¹; Artur Torquato Pereira de Souza¹

¹ Instituto de Ciências Biológicas – ICB/UPE, Rua Arnóbio Marques, 310, Santo Amaro

mgabriela1996@gmail.com

O *Phragmatopoma caudata* Krøyer in Mörch, 1863 é um anelídeo tubícola da família Sabellariidae, habita de regiões rasas a profundas e tem uma ampla distribuição nas Américas, ocorrendo desde o Cabo Canaveral nos EUA, até o estado de Santa Catarina no Brasil. Organismo classificado como poliqueta devido a sua grande quantidade de cerdas, que auxiliam na locomoção, possui o corpo dividido em cinco regiões: coroa opercular, tórax, paratórax, abdômen e cauda. Através da capacidade de contruir recifes biogênicos, consegue formar colônias em ambientes entremarés. Apresenta dimorfismo sexual e população similar de machos e fêmeas. O estudo foi desenvolvido na praia de Boa Viagem (PE) e tem o objetivo de analisar a histologia dos ovócitos do *P. caudata* através da técnica de PAS. O material coletado foi transportado para o Laboratório de Biologia Marinha (ICB, Departamento de Biologia, UPE), devidamente acondicionado num recipiente com gelo. Os espécimes foram cortados e fixados na lâmina com parafina, sendo as lâminas coradas pela técnica de PAS. Os cortes histológicos foram preparados e analisados no Laboratório de Técnicas Histológicas do Instituto de Ciências Biológicas do ICB/UPE. A fase da reprodução observada nas fêmeas em estudo foi no período pré-fecundação e a estrutura dos ovócitos observada na coloração do PAS demonstrou forte reação positiva, evidenciando que os vitelos destes gametas apresentam na sua composição glicosaminoglicanos.

Palavras chaves: poliqueta, gametas, histologia, glicosaminoglicanos.

APLICAÇÕES DA FARMACOGENÉTICA NAS RESPOSTAS MEDICAMENTOSAS: UMA REVISÃO

Vanessa de Albuquerque Brito¹; Michelle Melgarejo da Rosa²

Centro Universitário Boa Viagem (UNIFBV/WIDEN)^{1,2}; Universidade Federal de Pernambuco².

A farmacogenética é uma área que estuda as diferenças genéticas entre indivíduos, as quais podem afetar as respostas aos medicamentos. Polimorfismos genéticos em enzimas metabolizadoras, transportadores ou receptores contribuem para as variações nas respostas das drogas, causando toxicidade ou uma baixa eficácia do tratamento. Com isso, esta área realiza estudos sobre a personalização da resposta ao medicamento através da genética e consequente, individualização da terapia. A presente revisão tem por objetivo explicar informações sobre as aplicações da farmacogenética na resposta aos medicamentos, além de elencar os benefícios do seu uso na clínica. Foram realizadas buscas nos bancos de dados PubMed e Scielo utilizando os seguintes termos: “farmacogenética”, “tratamento personalizado” e “biomarcadores genéticos”. Estudos farmacogenômicos estão elucidando a natureza genômica dessas diferenças de efeitos entre pessoas. Caminhamos para a evolução da medicina, onde novas formulações individuais serão implementadas, fornecendo uma base científica mais forte para aperfeiçoar a terapia medicamentosa com base na constituição genética de cada paciente. Os biomarcadores genéticos para eficácia na resposta e para reações adversas a drogas são de importância especial. As reações adversas respondem por aproximadamente 7% das hospitalizações, 20% de todas as readmissões nos hospitais e a 4% das retiradas de novas entidades químicas. Elas são tão caras quanto o próprio tratamento, e estão entre as principais causas de morte nos EUA, com 100.000 mortes anuais. Neste contexto, três grandes grupos de genes podem ser analisados: genes que codificam enzimas envolvidas na metabolização e eliminação dos fármacos (farmacocinética), genes que codificam proteínas envolvidas no mecanismo de ação (farmacodinâmica) e genes que codificam proteínas envolvidas no desenvolvimento direto da doença ou de fenótipos intermediários. Evoluímos para uma era onde as terapias serão geneticamente personalizadas com menos efeitos adversos e maior eficácia medicamentosa possibilitando, portanto, melhor prognóstico e a cura programada de doenças graves e raras.

Palavras chaves: farmacologia; farmacogenética; tratamento.

ASPECTOS DA FISIOPATOGENIA DO *Demodex canis*: REVISÃO DE LITERATURA

Natália Cyntia Alves Medeiros¹, Lucilo Bioni da Fonseca Filho², Lourival Barros de Sousa Brito Pereira², Isabela Cândida da Silva Alcântara¹, Priscilla Virgíniode Albuquerque³, Gilcifran Prestes de Andrade³, Darlan Victor Cavalcanti¹, Júlio Cézar dos Santos Nascimento⁴

¹Discente do curso de Medicina Veterinária em Centro Universitário Maurício de Nassau.

²Médico veterinário.

³Doutoranda em Ciência Animal Tropical na Universidade Federal Rural de Pernambuco.

⁴Professor em Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Resumo:

A Demodicose, conhecida como sarna negra ou demodécica é uma enfermidade que acomete cães com menos de um ano ou com maior pureza racial, causada pelo ácaro *Demodex canis*. Este reside nos folículos pilosos, ductos e glândulas sebáceas, alimentam-se de células, material sebáceo e restos epidérmicos. Fornecer dados acerca da fisiopatogenia de *D. canis*. O resumo foi elaborado a partir de consultas de artigos inseridos nas plataformas digitais, tais como, Google acadêmico, Scielo, utilizando-se também de livros acadêmicos. O ciclo de vida de *D. canis* consiste em quatro estágios: ovo, larva hexápode, ninfa e adulto octópode. A patogenia ocorre pela presença do ácaro nos folículos pilosos e glândulas sebáceas ocasionando sua dilatação, acarretando invasão bacteriana secundária. Grande quantidade de ácaros na epiderme causará danos e deslocamentos das hastas dos pelos, provocando a queda. Estresse, desnutrição, parto, lactação, doenças debilitantes e o contato direto da cadela infectada com os neonatos nos primeiros dias de vida são fatores predisponentes a demodicose. Animais que nascem por cesariana e não recebem colostro da mãe, não albergam o ácaro, tal fato prova que a transmissão *in útero* não ocorre. A patologia pode apresentar-se localizada ou generalizada, causando alopecia, eritemas, descamação e hiperpigmentação da pele. A anamnese deve ser feita detalhadamente, exames hematológicos e raspados de pele também devem ser utilizados para o diagnóstico. A terapia tópica mostra resultados positivos, peróxido de benzoíla e clorexidina são aplicados em banhos, enquanto que, ivermectina e doramectina são opções de terapia oral.

Conclusão: Demodicose pode levar a quadros distintos dependendo da condição clínica do paciente. Alguns tratamentos tópicos e orais demonstram eficácia. É importante na prevenção e controle da doença, evitar cruzamentos de animais que se mostraram positivos ao ácaro. Desta forma, recomenda-se a castração dos mesmos evitando propagações de *D. canis* em novas ninhadas.

Palavras-chave: ácaro, cães, demodicose, dermatologia, sarna.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE B-LAPACHONA E OXIMA DO LAPACHOL SOBRE ISOLADOS CLÍNICOS DE MRSA

Edilson do Carmo Marins Júnior¹; Antônio Wilton Cavalcante Fernandes¹; Mateus Matiuzzi daCosta¹

¹ Fundação Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf

RESUMO

A saúde humana, animal e ambiental coexistem em um conjunto de relações que definem os parâmetros da Saúde Única. Neste sentido, vários estudos têm buscado isolar microrganismos patogênicos e multirresistentes, além de buscar novas alternativas terapêuticas para o controle e erradicação de doenças infecciosas. O uso combinado de terapêuticos vem sendo visto como uma alternativa no combate às infecções, uma vez que é capaz de eliminar a bactéria por diferentes vias. O desenvolvimento de terapias alternativas baseadas na síntese química pode potencializar a atividade biológica de substâncias naturais e auxiliar os antimicrobianos no controle de quadros infecciosos. Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar o perfil de susceptibilidade antimicrobiana de isolados clínicos de MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) aos derivados semissintéticos β -lapachona e Oxima do Lapachol. Para a realização dos ensaios foram selecionados cinco isolados clínicos de origem humana e cinco de origem animal. A atividade antimicrobiana de cinco antibióticos (Oxacilina, Gentamicina, Cloranfenicol, Vancomicina e Ciprofloxacina) e dos dois compostos orgânicos (β -Lapachona e Oxima do Lapachol) foi realizada através da análise da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) pela técnica de microdiluição em caldo. Verificou-se que os antibióticos mais utilizados como Oxacilina e Gentamicina tiveram valores médios de CIM de 292,23 $\mu\text{g/mL}$ e 6,37 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Para a CBM, os valores médios foram de 306,11 $\mu\text{g/mL}$ e 6,70 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. A β -Lapachona apresentou valores médios de 14,58 $\mu\text{g/mL}$ para a CIM e CBM. Enquanto, para a Oxima do Lapachol foi observado valores médios de CIM de 20,83 $\mu\text{g/mL}$ e CBM de 38,54 $\mu\text{g/mL}$. Diante disto é possível concluir que entre os derivados, a B-lapachona apresentou o melhor potencial antimicrobiano, uma vez que foi verificado os menores valores de CIM e CBM. Portanto, pode-se afirmar que é a substância de escolha para os futuros testes de sinergismo.

Palavras-chave: derivados semissintéticos; alternativa antimicrobiana; resistência antimicrobiana.

ATIVIDADE TOXICOLÓGICA DO RESÍDUO PULVERIZADO DE *Andira parviflora* SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti*

Niédja Feliciano de França¹, Gabriel Paiva Rodrigues², Daniel Tarciso Martins Pereira²,
Marcilene Souza da Silva¹, Juliana Ellen de Melo Gama¹, Rômulo Carlos Dantas da Cruz¹,
Raira Justino Oliveira Costa¹, Ivone Antonia de Souza¹.

¹Universidade Federal de Pernambuco-UFPE\Departamento de Antibióticos

²Universidade Federal do Amazonas – UFMA\ICETE

O *Aedes aegypti* apresenta grande importância no ponto de vista epidemiológico, sendo o transmissor dos vírus causadores da febre chikungunya, zika e principalmente da dengue. A estratégia mais eficaz de combate ao vetor se dá por meio da utilização de produtos químicos sintéticos, no entanto, a utilização descontrolada destes inseticidas vêm selecionando populações de insetos resistentes. Nesse sentido, novas estratégias de controle vêm sendo estudadas como exemplo a utilização de inseticidas naturais. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade inseticida do resíduo pulverizado de *Andira parviflora* sobre larvas de *Aedes aegypti*. Para realização do experimento os resíduos de madeira de *Andira parviflora* foram coletados, pesados e posteriormente submetidos ao método de percolação, utilizando como solvente extrator etanol. O extrato etanólico foi preparado a 20% (m\v), utilizando 200 g do resíduo pulverizado de *Andira parviflora* e 1000 mL do solvente. Em seguida, o extrato foi submetido à secagem utilizando o evaporador rotativo e finalizando a secagem em estufa regulada a 27 °C, até que atingisse massa constante. Para realização do bioensaio, foram utilizadas 30 larvas de terceiro e quarto instar de *Aedes aegypti* por repetição e expostas às concentrações de 2 mg/mL, 1,5 mg/mL, 1,0 mg/mL do extrato etanólico e um grupo controle. As observações da mortalidade das larvas foram realizadas no intervalo de 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 16 e 24 horas, após o início do experimento. Realizados os cálculos, obteve-se um rendimento de extrato etanólico seco de 3,55% para a espécie. Em relação à atividade inseticida, as concentrações de 2 mg/mL, 1,5 mg/mL, 1,0 mg/mL do extrato etanólico não causaram mortalidade das larvas durante os períodos de observação. Dessa forma, o extrato etanólico do resíduo pulverizado de *Andira parviflora*, não demonstra potencial no que diz respeito à atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*.

Palavras-Chave: ensaio biológico, inseticidas naturais, controle de vetores.

AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DOS PINENOS EM CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANO

Waldecir Oliveira de Araújo Júnior¹, Davi Felipe Neves Costa¹, Brenna Louise Cavalcanti Gondim², Ana Cláudia Dantas de Medeiros², Ricardo Dias de Castro¹, Lucio Roberto Cancado Castellano¹

¹ Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, Campus I – João Pessoa-PB

² Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba, Campus I – Campina Grande-PB

Os óleos essenciais obtidos de produtos vegetais ganham destaque considerando sua diversidade de atividades biológicas. Estes são uma mistura complexa de substâncias provenientes do metabolismo secundário das plantas, dentre os quais, os pinenos merecem destaque. Estes possuem dois isômeros constitucionais ativos: α -pineno e β -pineno e apresentam potencial anti-inflamatório, antitumoral e antimicrobiano. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial citotóxico do (+)- α -pineno e (+)- β -pineno em células mononucleares do sangue periférico humano (PBMC). Os PBMCs foram isolados de amostras de sangue periférico heparinizado, usando-se o protocolo de gradiente de densidade Ficoll-Paque™ 1077. A citotoxicidade baseou-se em alíquotas 50 μ l de PBMCs em placas de 96 poços pretas incubados com 50 μ l dos estímulos de (+)- α -pineno e do (+)- β -pineno em diferentes concentrações (112,5 μ M; 225 μ M; 450 μ M; 900 μ M; 1800 μ M; 3600 μ M e 7200 μ M) em duplicata e durante 24 horas a 37°C e 5% de CO₂. Após, foram adicionados 10 μ l de alamarBlue^R, mantido por mais 10h em cultivo e a leitura da fluorescência realizada em fluorímetro de microplacas. O controle de morte celular foi realizado com etanol absoluto, e no controle de viabilidade foram apenas células. Os resultados mostram que concentrações de (+)- α pineno, iguais ou maiores que 1800 μ M (250 μ g/ml) foram tóxicos e as concentrações entre 112,5 μ M (15,62 μ g/ml) e 900 μ M (125 μ g/ml) foram citocompatíveis. O perfil de citotoxicidade do (+)- β -pineno mostram que concentrações iguais ou maiores que 900 μ M (125 μ g/ml) foram tóxicas e as concentrações entre 112,5 μ M (15,62 μ g/ml) e 450 μ M (62,5 μ g/ml) não foram tóxicas nas células testadas. Por fim, os resultados do presente trabalho contribuiram para aumentar o conhecimento sobre o uso dos pinenos como fitoterápicos. No entanto, faz-se necessário a realização de testes in vivo para avaliar a segurança e o efeito dessas substâncias.

Palavras-Chaves: pinenos, citotoxicidade, leucócitos.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS ISOLADOS SOBRE *Staphylococcus aureus*

Alisson Teixeira da Silva.¹; Márcia Vanusa da Silva.²; Mateus Matiuzzi da Costa.¹

¹ Fundação Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf

² Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

O leite bovino é um produto de origem animal com elevado valor nutricional e sua produção é uma das mais importantes atividades agrícolas no Brasil. O melhoramento genético dos rebanhos com o intuito de obter uma maior produção de leite tem um impacto sobre o bem-estar do animal e a incidência de doenças, a exemplo da mastite. A mastite é uma inflamação nas glândulas mamárias, causada principalmente por agentes bacterianos, com destaque para *Staphylococcus aureus*. A principal estratégia para o tratamento é a antibioticoterapia, no entanto, em função do surgimento de cepas resistentes têm sido observados graus variados de eficiência. Portanto, existe uma demanda pelo desenvolvimento de métodos mais eficientes e seguros. A utilização de compostos naturais, como o uso de óleos essenciais, vem se tornando uma saída viável para o problema, pois são complexos, de baixo peso molecular e podem apresentar centenas de componentes químicos. Diante disto, o objetivo foi verificar o efeito antimicrobiano de óleos essenciais e compostos isolados sobre *S. aureus* resistentes à oxacilina. Foram utilizados oito isolados de *S. aureus* e dez substâncias: óleos essenciais de licuri (*Syagrus coronata*); babaçu (*Attalea speciosa*); macaíba (*Acrocomia aculeata*) e eugênia, e compostos isolados: ácido decanóico; óxido de cariofileno; ácido octanóico; ácido dodecanóico; β -cariofileno e *trans*-cariofileno. A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foram determinadas a partir da microdiluição em caldo. Verificou-se que os óleos essenciais de babaçu e eugênia, assim como o óxido de cariofileno apresentaram a melhor atividade antimicrobiana, com valores médios de CBM de 312,5 μ g/mL, 758,9 μ g/mL e 1171,9 μ g/mL, respectivamente. Quanto à inibição de crescimento apresentaram valores médios de CIM de 468,75 μ g/mL, 312,5 μ g/mL e 781,25 μ g/mL, respectivamente. Foi possível concluir que essas substâncias possuem atividade antimicrobiana sobre os microrganismos estudados sendo, portanto, um método candidato para o tratamento da mastite bovina.

Palavras-chave: fitoterapia, mastite, resistência antimicrobiana.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Syagrus coronata*

Deyzi Caroline da Silva Barbosa¹; Paloma Maria da Silva¹; Márcia Vanusa da Silva¹; Maria Tereza dos Santos Correia¹

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica – Centro de Ciências da Saúde

Syagrus coronata é uma palmeira que cresce em regiões semiáridas como a Caatinga. A espécie é utilizada tradicionalmente pela comunidade para produção de alimentos, cosméticos, ornamentação e com fins medicinais. O presente estudo teve por finalidade avaliar a atividade hemolítica do óleo essencial da amêndoa de *S. coronata* em eritrócitos humanos. O material vegetal foi coletado no parque nacional do Vale do Catimbau (Pernambuco) e as amêndoas foram trituradas para obtenção do óleo essencial. A atividade hemolítica foi determinada *in vitro* onde foi preparada uma suspensão de eritrócitos humanos a 2% (v/v) e incubadas com concentrações do óleo essencial de *S. coronata* (OES) variando de 250 a 31,25 µg/mL. Foi utilizado como controle negativo e controle positivo uma suspensão de eritrócitos e Triton X-100, respectivamente. O resultado da atividade hemolítica foi expresso em porcentagem, de acordo com equação estabelecida para análise. O OES não apresentou alta toxicidade para os eritrócitos humanos. Os melhores resultados com baixa porcentagem de hemólise foram obtidos nas menores concentrações 31,5 µg/mL (hemólise de 0,3%) e 62,5 µg/mL (hemólise de 1,5%). A realização de testes que comprovem a veracidade científica do uso de espécies vegetais pela comunidade e a análise de sua toxicidade são de grande importância, visto que muitas espécies são utilizadas sem nenhum respaldo científico. O presente estudo contribui com dados científicos sobre *S. coronata* servindo de base para estudos posteriores mais aprofundados.

Palavras-chave: licuri, hemólise, ouricuri, caatinga.

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE DERIVADOS DA REAÇÃO MORITA-BAYLIS-HILLMAN NA LINHAGEM TUMORAL K562

Julia Leite Cordeiro De Souza¹, Thiago David Dos Santos Silva¹ Claudio Gabriel Lima-Junior², Gilmar Feliciano Dos Santos², Mário Luiz Araújo De Almeida Vasconcelos², Gardenia Carmen Gadelha Militão¹

¹Universidade Federal de Pernambuco, ²Universidade Federal da Paraíba

A reação Morita-Baylis-Hillman (MBHR) consiste em uma ligação entre alcenos com retirada de elétrons, aminas terciárias são utilizadas como catalisadores, aldeídos e iminas são utilizados como eletrófilos. Foi demonstrado que alguns adutos dessa reação com a porção nitrilo possuíam atividade citotóxica diante de células da linhagem HL60 (leucemia promielocítica) e K562 (leucemia mieloide crônica) (LIMA128, G.et al., 2016). O presente estudo avaliou a atividade citotóxica na linhagem de leucemia mieloide crônica (K562) de cinco novos adutos da reação Morita-Baylis-Hillman: MBH 02, MBH 06, MBH 07, MBH 08 e MBH 09. Utilizou-se o método do MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium] para realizar os experimentos que avaliam a citotoxicidade após 72h de tratamento. Primeiramente, foi realizado o teste de concentração única onde foi verificada elevada atividade citotóxica (com inibição superior a 90%) de todos os compostos testados na concentração de 50 µM. Por conseguinte, o ensaio que determina a concentração inibitória em 50% (CI₅₀) foi realizado, a CI₅₀ dos compostos MBHs variou entre 3.62 e 11.10 µM. Para que fosse estabelecido o índice de seletividade do aduto pela célula tumoral, foi realizado o teste para determinação da CI₅₀ em células mononucleares do sangue periférico e este, por sua vez, variou entre 7.14 e 14.52 µM. Os índices de seletividade dos adutos MBH 02, MBH06, MBH 07, MBH 08 e MBH 09 foram respectivamente: 1.32; 2.06; 1.41; 0.68 e 1.97. Doxorrubicina foi utilizada como controle positivo em todos os experimentos. Foi observado que os adutos apresentaram baixa CI₅₀ em células da linhagem K562 sendo o composto MBH 06 com melhor seletividade.

Palavras-chave: Morita-Baylis-Hillman, citotoxicidade, K562.

AVALIAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Byrsonima gardineriana*

Deyzi Caroline da Silva Barbosa¹; Graziela Claudia da Silva¹; Márcia Vanusa da Silva¹; Maria Tereza dos Santos Correia¹

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica – Centro de Ciências da Saúde

A resistência a agentes antibacterianos têm se tornado um importante problema global. Diante do potencial biotecnológico das plantas da Caatinga, este estudo buscou avaliar o perfil fitoquímico e a ação antimicrobiana do extrato etanólico da folha de *Brysonima gardineriana*, uma espécie pertencente ao domínio fitogeográfico da Caatinga contra bactérias multirresistentes. Foi produzido o extrato etanólico da folha de *B. gardineriana* e determinado o perfil fitoquímico através de cromatografia em camada delgada para análise dos metabólitos secundários empregando diferentes fases móveis e reveladores específicos. Foi avaliada a atividade antimicrobiana do extrato através do método de microdiluição em caldo para determinar a Concentração Mínima Inibitória (CMI) e a Concentração Mínima Bactericida (CMB) do extrato frente às espécies bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* e *Klebsiella pneumoniae* multirresistentes, pertencentes à coleção de culturas do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Na determinação do perfil fitoquímico foram encontrados os metabólitos: flavonoides, triterpenos, esteroides, proantocianidinas, monoterpenos e sesquiterpenos. Para a atividade antimicrobiana as concentrações mínimas inibitórias e concentrações mínimas bactericidas obtidas foram significativas para *S. aureus* (CMI de 0,39 mg/ml e CMB de 1,56 mg/ml) e *P. aeruginosa* (CMI de 3,13 mg/ml e CMB de 6,25 mg/ml). Enquanto que, para *S. enteritidis* e *K. pneumoniae* não houve inibição. A avaliação de espécies vegetais para uso terapêutico e antibiótico deve ser estimulada no intuito de obtenção de novos fitoterápicos com atividade antibacteriana.

Palavras- chaves: plantas medicinais, extratos vegetais, caatinga.

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO DERIVADO TIAZOLIDÍNICO SF-34 NO METABOLISMO LIPÍDICO HEPÁTICO DE CAMUNDONGOS LDLR-/-

Rodrigo Soares da Silva^{1,2}, Amanda Karolina Soares e Silva¹, Fabiana Oliveira dos Santos Gomes^{1,2}, Amanda Costa Oliveira¹, Edlene Lima Ribeiro^{1,2}, Christina Alves Peixoto¹

¹ Laboratório de Ultraestrutura, Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE), Brasil¹

² Faculdade Integrada de Pernambuco²

A doença do fígado gorduroso não alcoólico (NAFLD) tem se tornado a causa mais comum de lesões hepáticas crônicas em todo mundo. Em geral, os atuais fármacos existentes para o tratamento da NAFLD são limitados e diferenciados, pois só conseguem deter ou atrasar a agressão tecidual. Sendo assim, existe a necessidade de descobrir novos tratamentos para a patologia da NAFLD. O objetivo do estudo foi analisar a ação do derivado tiazolidínico SF-34 e sobre o metabolismo lipídico hepático de camundongos LDLr-/- . Trinta camundongos machos foram divididos em 3 grupos: 1 – Controle, 2 - dieta rica em gordura (HFD), 3-HFD + SF-34. Os experimentos foram realizados durante 16 semanas e, nas duas últimas semanas, a molécula foi administrada. O grupo HFD apresentou aumento significativo no colesterol total, LDL, triglicérideo, ALT e AST, os quais foram reduzidos após o tratamento com SF-34. Nas análises histopatológicas, o grupo controle apresentou arquitetura bem preservada com hepatócitos bem característicos e com baixo conteúdo lipídico e de colágeno. Após a indução com a dieta rica em gordura, foi observada uma desorganização tecidual com presença de esteatose e infiltrados inflamatórios. Entretanto, o grupo tratado com o derivado SF-34 apresentou uma melhora significativa nas alterações causadas pela dieta HFD com diminuição da quantidade de gordura e colágeno hepático. Em relação ao metabolismo lipídico, a utilização da dieta HFD aumentou a expressão da enzima ACC e o tratamento com o SF-34 reduziu de forma significativa a expressão dessa enzima. Adicionalmente, a enzima ATGL apresentou um aumento significativo na imunomarcagem após tratamento com o SF-34 em comparação com o grupo HFD. Esses resultados sugerem que o SF-34 atua sobre os fatores que afetam o fígado desses animais, tornando-se um candidato promissor para o tratamento da NAFLD.

Palavras-chave: NAFLD, ATGL, ACC, derivados tiazolidínicos, SF-34.

AVALIAÇÃO LARVICIDA DE EXTRATO ETANÓLICO DE *Portulaca pilosa* SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti*

Marcilene Souza da Silva¹, Maria Raimunda Magalhães Mendes², Daniel Tarciso Martins Pereira², Emanuelle Maria da Silva¹, Niedja Feliciano de França¹, Rômulo Carlos Dantas da Cruz¹, Raira Justino Oliveira Costa¹, Ivone Antônia de Souza¹

¹Universidade Federal de Pernambuco-UFPE\Departamento de Antibióticos

²Universidade Federal do Amazonas – UFMA\ICETE

A principal ação no controle de *Aedes aegypti*, baseia-se no uso de inseticidas químicos sintéticos. Estes compostos têm a vantagem de promoverem ação rápida e eficiente no combate, entretanto, apresentam desvantagens como a alta toxicidade para mamíferos e o meio ambiente e vem selecionando populações de insetos resistentes. Desta forma, vários outros métodos de controle, vêm sendo avaliados, dentre esses, destacam-se os de origem botânica. Neste sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar a propriedade inseticida do extrato etanólico obtido a partir das folhas de *Portulaca pilosa* sobre larvas de *Aedes aegypti*. Para realização do experimento as folhas de *Portulaca pilosa* foram coletadas, pesadas e posteriormente submetidas ao processo de extração para obtenção do extrato etanólico, o qual foi obtido pelo método de percolação. Para avaliação inseticida utilizou-se 30 larvas de terceiro e quarto instar por repetição e expostas as concentrações de 2 mg/mL, 1,5 mg/mL, 1,0 mg/mL, obtidas a partir de uma solução estoque de 0,409 g do extrato etanólico e, um grupo controle. As observações da mortalidade das larvas foram realizadas no intervalo de 16 e 24 horas, após o início do experimento. O extrato etanólico de *Portulaca pilosa* obteve-se um rendimento de 10,4%. Em relação aos dados obtidos relativos ao percentual de mortalidade, demonstraram que em 16 horas após o início do bioensaio as concentrações de 1,5 mg/mL e 2 mg/mL apresentaram 30,0% e 55,5% de mortalidade das larvas respectivamente, quanto ao período de 24 horas as concentrações de 1,5 mg/mL e 2 mg/mL ocasionaram 37,7% e 61,0% de mortalidade larval respectivamente, a concentração de 1,0 mg/mL e o controle não apresentaram mortalidade. O extrato etanólico de *Portulaca pilosa*, sobretudo na concentração de 2 mg/mL, demonstrou potencial no que diz respeito à atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*, o que demonstra a necessidade de continuidade dos estudos.

Palavras-Chave: controle vetorial, dengue, inseticidas botânicos.

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Aspidosperma pyrifolium* SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti*

Juliana Ellen de Melo Gama¹, Emanuelle Maria da Silva¹, Marcilene Souza da Silva¹, Niédja Feliciano de França¹, Raira Justino Oliveira Costa¹, Rômulo Carlos Dantas da Cruz¹, Ivone Antônia de Souza¹

¹Universidade Federal de Pernambuco-UFPE\Departamento de Antibióticos

As plantas sintetizam diversas substâncias bioativas, as quais podem ser usadas para formulação de inseticidas naturais. Portanto, cresce a incessante busca destes inseticidas, uma vez que, proporcionam baixo impacto ambiental, e apresentam menor custo quando comparado aos demais. Inseticidas que atuem no controle de *Aedes aegypti* merecem destaque, pois o vetor vem causando perplexidade à população mundial por ser transmissor de vírus causadores de várias doenças, principalmente da dengue, sendo esta, uma das mais importantes arboviroses que atinge o homem e constitui um sério problema de saúde pública, principalmente em regiões tropicais e subtropicais do globo. Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial inseticida do extrato etanólico obtido a partir da casca de *Aspidosperma pyrifolium* sobre larvas de *Aedes aegypti*. Para realização do experimento as cascas foram coletadas, pesadas e posteriormente submetidas ao processo de extração utilizando o evaporador rotativo. Para avaliação inseticida utilizou-se larvas de terceiro e quarto instar e como solvente para solubilização do extrato foi utilizado Tween e água destilada na proporção de 15:6 (v\v). Esta proporção de Tween e água destilada também foram utilizadas para preparação da solução estoque do grupo controle. Foram utilizadas na avaliação larvicida três concentrações (20 mg/mL, 10 mg/mL e 5 mg/mL), obtidas a partir de uma solução estoque de 3,6 g do extrato e, um grupo controle. Foram utilizadas 30 larvas por repetição, totalizando três repetições por tratamento. As observações da mortalidade das larvas foram realizadas em um período de 24 horas após o início do experimento. As concentrações de 20 e 10 mg/mL ocasionaram 100% de mortalidade larval, quanto a concentração de 5 mg/mL causou 98,0% de mortalidade das larvas. No grupo controle não houve mortalidade. Dessa forma, o extrato etanólico de *Aspidosperma pyrifolium*, demonstra potencial no que diz respeito à atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*.

Palavras-Chave: biodiversidade, caatinga, inseticidas naturais, controle vetorial.

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Morinda citrifolia* Linn. SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti*

Emanuelle Maria da Silva¹, Marília Gabriela Muniz Arruda¹, Marcilene Souza da Silva¹, Juliana Ellen de Melo Gama¹, Niédja Feliciano de França¹, Raira Justino Oliveira Costa¹, Rômulo Carlos Dantas da Cruz¹, Ivone Antonia de Souza¹

¹Universidade Federal de Pernambuco-UFPE\Departamento de Antibiótico

As plantas destacam-se popularmente por serem detentoras de uma ampla diversidade de substâncias bioativas, como exemplo, as que apresentam atividade praguicida. Nesses últimos anos, a busca por inseticidas botânicos para o controle vetorial, principalmente de *Aedes aegypti*, tem crescido progressivamente, especialmente devida às possibilidades de inserção de metabólitos secundários em produtos inseticidas, que poderão ser utilizados para o controle de insetos. *Morinda citrifolia* Linn. conhecida como “Noni”, apresenta atividades biológicas comprovadas, a exemplo, atividade e ação antibactericida porém não existem estudos que comprovem o seu potencial como inseticida botânico. Dessa forma, o objetivo do estudo foi a avaliar o potencial toxicológico do extrato etanólico obtido a partir das sementes e do fruto da *Morinda citrifolia* Linn. sobre as larvas de *Aedes aegypti*. Para realização do experimento os frutos e sementes foram coletados, pesados e, posteriormente submetidos ao processo de extração para obtenção do extrato etanólico, o qual foi obtido pelo método de rotaevaporação. Para avaliação inseticida utilizou-se 30 larvas de terceiro e quarto instar por repetição e expostas as concentrações de 10 mg/mL, 5 mg/mL, 2,5 mg/mL, obtidas a partir de uma solução estoque de 38 g do extrato etanólico e um grupo controle. As observações da mortalidade das larvas foram realizadas no intervalo de 24 horas após o início do experimento. Em 24 horas de exposição das larvas, as concentrações de 10 mg/mL, 5 mg/mL e 2,5 mg/mL apresentaram 20%, 27,66% e 23,38% de mortalidade larval respectivamente, no grupo controle não houve mortalidade. O extrato etanólico do fruto e sementes de *Morinda citrifolia* Linn. especialmente na concentração de 5 mg/mL apresenta potencial no que diz respeito à atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*, o que demonstra a necessidade de continuidade dos estudos.

Palavras-Chave: controle vetorial, dengue, inseticidas naturais.

BIOENGENHARIA E SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS NO PRÉ-TRATAMENTO DA LIGNINA PARA A OBTENÇÃO DE MAIORES RENDIMENTOS ENERGÉTICOS

Manuela Correia Dionísio¹; Crislayne Gonçalo de Santana Marinho¹; Ingrid Prata Mendonça¹; Emanuelle Maria da Silva¹; Maria José Bernardo da Silva Filha¹

¹Estudante do Curso de Biomedicina – CB – UFPE; E-mail: manu1pe0@gmail.com

Devido à insegurança acerca dos combustíveis fósseis, novas tecnologias, como o uso de biocombustíveis vêm sendo desenvolvidas. Logo, a obtenção deles através da biomassa, junto a métodos computacionais e de bioengenharia vêm tornando-os rentáveis nesses processos. Revisar novas metodologias, envolvendo biocombustíveis de segunda geração, para uma produção mais rentável deles. Revisou-se a Literatura utilizando a base de dados do NCBI e do google scholar. Devido à constante instabilidade ao qual o petróleo vem inserindo vários países, a criação de uma bioeconomia vem sendo, cada vez mais, sustentada. Por isso, atualmente, a pesquisa por alternativas viáveis e sustentáveis a essa substituição estão sendo discutidas. Como as tecnologias biocombustíveis de segunda geração, à base de celulose, que vem ganhando espaço. Uma vez que a biomassa é o produto mais largamente produzido, e a utilização dela (resíduos da agricultura) é altamente viável, diminuindo os impactos ambientais e podendo contribuir para a geração de empregos. Logo, a necessidade de novas tecnologias para o processamento dessa biomassa, como a etapa de pré-tratamento desempenha uma grande importância nesse processo. E, a lignina, como um dos componentes dessa biomassa, possui uma função importante nele. Por isso, ela tem sido alvo de manipulação genética por várias décadas, para o aumento do rendimento na produção sem provocar efeitos prejudiciais no desenvolvimento da planta. Além das simulações computacionais que vêm intensificando a verificação dessas alterações ao nível de fenótipo. A simulação computacional tem um grande potencial quando aplicada com métodos de engenharia genética na predição de melhores rendimentos dos biocombustíveis.

Palavras-chave: biocombustível, rendimento, bioengenharia, simulação computacional.

BIOSENSORES E SUAS APLICABILIDADES NA ÁREA DA SAÚDE

Vanessa Nunes dos Santos Silva¹; Ayrton Agripino de Souza Silva¹; Ketly Rodrigues Barbosa dos Anjos¹; Isabella Macário Ferro Cavalcanti^{1,2}.

¹Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Centro Acadêmico de Vitória (CAV)

²Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA)

Os biossensores são dispositivos tecnológicos que são utilizados como um recurso para identificação de componentes de origem biológica, podendo ter aplicações em diversas áreas. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica a cerca do que são biossensores e algumas de suas aplicabilidades na área da saúde. A metodologia consistiu em analisar artigos publicados nas bases de dados SciELO e PubMed utilizando o descritor Biossensores e Biossensores. Os critérios de inclusão foram artigos publicados em inglês e português entre os anos de 2014 a 2018, totalizando vinte artigos. Os biossensores são dispositivos considerados ferramentas de cunho analítico, uma vez que são utilizados para identificação de elementos biológicos, como por exemplo, enzimas, DNA, células, tecidos entre outros. Esses aparelhos podem também medir a quantidade do analito de interesse, pois através de um transdutor estas informações são convertidas em um sinal elétrico e enviadas para um sistema que processa e analisa estes dados. As pesquisas mostraram que os biossensores exercem papel importante para o diagnóstico de doenças como diabetes mellitus, e identificação de alguns patógenos como vírus e bactérias causadores de importantes doenças infecciosas. Os biossensores podem auxiliar também na descoberta de doenças cardíacas e alguns tipos de câncer. Muitas outras aplicações destes dispositivos na área da saúde ainda estão sendo desenvolvidos para diagnóstico de doenças, análises clínicas, análises genéticas e outros. Os estudos voltados para este campo apesar de serem recentes são bastante promissores. Com esta revisão fica perceptível que o uso da tecnologia de biossensores pode trazer novas perspectivas para o campo da saúde, pois são práticos, de baixo custo, portáteis e podem gerar resultados rápidos e eficientes mostrando-se como uma ferramenta eficaz de quantificação e qualificação de dados.

Palavras-Chave: biossensores, biotecnologia, diagnóstico.

PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DO MELANOMA EM CAVIDADE ORAL: REVISÃO DE LITERATURA

Wesley Rodrigues da Silva¹; Cleiton Rone dos Santos Lima²; Débora Regina Da silva Franco¹; Bruno Padilha de Souza Leão Siqueira Campo¹; Reydson Alcides de Lima Souza³

¹Universidade Federal de Pernambuco; ²Universidade de Pernambuco – UPE *Campus* Petrolina; ³Universidade Estadual de Campinas.

RESUMO

Introdução: O melanoma oral é um tumor raro e corresponde a 0,5% de todas neoplasias da cavidade oral. Sua etiologia ainda é desconhecida. Geralmente, na cavidade oral, ocorre entre a quarta e a sétima década de vida, sendo mais incidente no sexo masculino do que no feminino. Apresenta uma alta taxa de mortalidade, com uma sobrevida de 15% após 5 anos de diagnóstico.

Metodologia: O estudo caracterizou-se por uma busca bibliográfica nas bases de dados eletrônicos: PubMed/Medline, Lilacs e Scielo, limitando-se a busca ao período de 2013 a 2018.

Revisão: Clinicamente o melanoma oral pode simular outras lesões. Apresenta-se na cavidade oral como uma mancha pigmentada de coloração cinza ao negro ou do vermelho ao roxo, podendo em alguns casos apresentar superfície amelanótica. O local mais acometido é o palato, seguido pela gengiva. Outros locais podem afetados como assoalho da boca e a mucosa bucal. Para diagnóstico é necessário a realização de biópsia. O tratamento mais aplicado é o cirúrgico, associado de imunoterapia e/ou radioterapia, porém esse tratamento é controverso devido ao risco relatado de disseminação das células malignas durante procedimentos invasivos. **Conclusão:** Durante o exame clínico deste tipo de ocorrência é necessária uma atenção especial, sabendo questionar o paciente para obter informações importantes a respeito da lesão, além de ter conhecimento dos diferentes tipos de lesões pigmentadas que acometem a cavidade bucal e face, assim como ter em mente a necessidade do exame histopatológico para obter o diagnóstico definitivo de lesões pigmentadas suspeitas.

Palavras-chave: Melanoma. Cavidade oral. patologia oral.

SINTOMATOLOGIA DO NEURILEMOMA ESPINAL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Wesley Rodrigues da Silva¹; Cleiton Rone dos Santos Lima²

¹Universidade Federal de Pernambuco; ²Universidade de Pernambuco – UPE *Campus* Petrolina

RESUMO

Introdução: Neurilemoma é um tumor benigno que pode desenvolver-se em nervos cranianos, periféricos, espinais e medula, embora com pouca frequência, o que dificulta diagnóstico. Em alguns casos, é facilmente confundido com hérnias de disco. **Objetivo:** Realizar uma revisão integrativa da literatura sobre a sintomatologia do neurilemoma espinal **Metodologia:** Foram utilizados os termos “*neurilemmoma*”, “*spinal nerves*” e “*spinal cord*”, de acordo com os DeCS/MeSH, por meio da ferramenta de busca da Biblioteca Virtual em Saúde nas bases de dados MEDLINE, LILACS e SciELO. Foram selecionados artigos publicados nos últimos 10 anos, disponíveis na íntegra, em Inglês e/ou Português e excluídos artigos duplicados em diferentes bases ou cuja temática abordada fugisse da proposta desta revisão. Neste estudo foram revisados nove artigos. **Revisão:** A sintomatologia varia de acordo com a região topográfica a ser inervada. Em curto prazo de desenvolvimento tumoral foi observado dor, perda da sensibilidade e força muscular e câibras. Em estágios mais avançados de desenvolvimento tumoral foram identificados retenção urinária e paralisia de membro inferior, quando o tumor encontrava-se em região lombossacra. **Conclusão:** Conhecer a sintomatologia do neurilemoma espinal é de suma importância para a avaliação clínica e complementar para definir o diagnóstico e estabelecer melhor conduta.

Palavras-chave: Neurilemoma; Nervos Espinhais.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE *Ximenia americana* L. (OLACACEAE) FRENTE BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA

Janderson Weydson Lopes Menezes da Silva^{1,3}, Jorge Belém Oliveira Júnior¹, Victor Emanuel Petricio Guimarães¹, Valquíria Bruna Guimarães Silva³, João Victor de Oliveira Alves³, Daivyane Aline Mota da Rocha¹, Fábio André Brayner^{1,2}, Dyana Leal Veras¹.

¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Departamento de Parasitologia, Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE).

²Laboratório de Microscopia Eletrônica, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco.

³Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco.

INTRODUÇÃO: A Caatinga é um bioma brasileiro que apresenta uma enorme quantidade de espécies vegetais que apresentam atividades biológicas pouco conhecidas e discutidas; no entanto, são utilizadas para fins terapêuticos na medicina tradicional. **OBJETIVO:** O presente trabalho pretende avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca de *Ximenia americana* em *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. **METODOLOGIA:** As cascas de *X. americana* foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau e depositadas no Herbário do Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco (96261/IPA-PE). O pó (10g) da casca foi diluído em 100mL de etanol, a solução foi deixada sobre agitação por 30 minutos, filtrada, rotaevaporada e por fim armazenada à 8°C. As cepas bacterianas do estudo são descritas pelo CLSI (2018): *S. aureus* (ATCC 29213), *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *A. baumannii* (ATCC 19606), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) e *E. coli* (ATCC 25922). A atividade antimicrobiana foi avaliada por microdiluição em caldo (400 a 3,125µg/mL), validada por contagem das unidades formadoras de colônias (UFC), sendo o extrato diluído em DMSO e inóculos ajustados em escala MacFarland. **RESULTADOS:** O extrato etanólico da casca exibiu atividade antimicrobiana apenas em *S. aureus* em 200µg/mL, não sendo possível determinar as UFC. Diversos estudos descrevem a atividade antioxidante do fruto, casca e raiz desse vegetal. Neste estudo, o extrato etanólico da casca não inibiu o crescimento de bactérias Gram-negativas, nas concentrações testadas, a composição da parede celular de espécies Gram-negativas pode alterar a susceptibilidade à ação de microbicidas. **CONCLUSÃO:** Assim, o presente estudo conclui que o extrato etanólico da casca de *X. americana* exibe um forte potencial de inibição no crescimento da espécie de *S. aureus*, sugerindo continuidade de estudos que analisam a ação antimicrobiana de extratos vegetais.

Palavras-chave: Plantas medicinais, Caatinga, Produtos naturais, Antimicrobianos, *Staphylococcus aureus*.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE *Ximenia americana* L. (OLACACEAE)

Janderson Weydson Lopes Menezes da Silva^{1,4}, Jorge Belém Oliveira Júnior¹, Victor Emanuel Petricio Guimarães¹, Valquíria Bruna Guimarães Silva⁴, João Victor de Oliveira Alves⁴, Daivyane Aline Mota da Rocha¹, Catarina Maria Cataldi Sabino de Araújo², Fábio André Brayner^{1,3}.

¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Departamento de Parasitologia, Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE).

²Departamento de Parasitologia, Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE).

³Laboratório de Microscopia Eletrônica, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco.

⁴Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco.

INTRODUÇÃO: A Caatinga é um bioma presente na região semiárida brasileira que possui plantas totalmente adaptadas ao clima bastante seco. Dentre a grande diversidade de plantas encontradas nesse bioma, a *Ximenia americana* que também é conhecida popularmente como ameixa-do-sertão possui dentre as principais indicações locais o uso em infecções e inflamações. **OBJETIVO:** O presente estudo tem como objetivo determinar e avaliar atividade antioxidante presente no extrato etanólico da casca de *Ximenia americana*. **METODOLOGIA:** As cascas de *X. americana* foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau e depositadas no Herbário do Instituto de Pesquisas Agrônomicas de Pernambuco (96261/IPA-PE). O pó (10g) da casca foi diluído em 100mL de metanol, condensado por 30min, filtrado e armazenado à 8°C. A atividade de radical livre de DPPH dos extratos foi realizada de acordo com a BrandWilliams et al. com algumas modificações. As medições foram realizadas em triplicata e suas atividades de eliminação foram calculados com base no percentual de redução do DPPH. **RESULTADOS:** O extrato etanólico de folha de *X. americana* apresentou porcentagem de inibição de radicais livres de 88,8% na maior concentração testada (500µg/mL) comparado aos padrões de ácido ascórbico (76,2%), quercetina 75,4%) e ácido gálico (72,4%). Há relatos da atividade anti-inflamatória e cicatrizante de *X. americana* em terapia popular. Diversos estudos descrevem a atividade antioxidante do fruto, casca e raiz desse vegetal. Outros autores descrevem que o local, temperatura, umidade e radiação ultravioleta influenciam a ação biológica do vegetal, por conta dos metabólitos secundários presentes no extrato que são produzidos pela planta. **CONCLUSÃO:** Assim, o presente estudo conclui que o extrato etanólico da casca de *X. americana* exibe um forte potencial antioxidante, sugerindo continuidade de estudos que analisam a ação antioxidante de extratos vegetais.

Palavras-chave: Plantas medicinais, Caatinga, Produtos naturais, antioxidantes, DPPH.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE *Ximenia americana* L. (OLACACEAE) FRENTE ESPÉCIES BACTERIANAS

Janderson Weydson Lopes Menezes da Silva^{1,3}, Jorge Belém Oliveira Júnior¹, Walter Bernhard Heinrich Ebberts II¹, Valquíria Bruna Guimarães Silva³, Wêndeo Kennedy Costa³, Daivyane Aline Mota da Rocha¹, Fábio André Brayner^{1,2}, Dyana Leal Veras¹.

¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Departamento de Parasitologia, Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE).

²Laboratório de Microscopia Eletrônica, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco.

³Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco.

INTRODUÇÃO: A utilização de fitofármacos provenientes da Caatinga através da medicina popular é uma realidade, as plantas provenientes desse bioma apresentam inúmeras atividades biológicas que podem ser encontradas em seus extratos naturais. **OBJETIVO:** O presente estudo tem como objetivo determinar a presença de ação antimicrobiana no extrato etanólico da folha de *Ximenia americana* em cepas bacterianas: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, e *Escherichia coli*. **METODOLOGIA:** As amostras de *X. americana* foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau e depositadas no Herbário do Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco (96261/IPA-PE). Em 100mL de etanol foram adicionados 10g do pó da folha, foi diluído em 100mL de etanol, a solução foi deixada sobre agitação por 30 minutos, filtrada, rotaevaporada e por fim armazenada à 8°C. As cepas utilizadas são categorizadas pelo CLSI (2018): *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 29213), *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *A. baumannii* (ATCC 19606) e *E. coli* (ATCC 25922). O extrato foi diluído em DMSO e inóculos ajustados em escala MacFarland, sendo a ação antimicrobiana verificada por microdiluição em caldo (400 a 6,25µg/mL) e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC). **RESULTADOS:** Foi observado que o extrato etanólico da folha de *X. americana* apresentou aspecto antimicrobiano apenas em *S. aureus* em 400µg/mL, não sendo determinadas as UFC. Neste estudo, o extrato etanólico da folha não impediu o crescimento de bactérias Gram-negativas. Esse resultado pode ser indicado, devido a composição estrutural da parede celular encontrada em bactérias Gram-negativas, o que pode modificar a susceptibilidade à ação de microbicidas. **CONCLUSÃO:** Diante disso, este estudo pontua que o extrato etanólico das folhas de *X. americana* possui aspecto antimicrobiano diante de *S. aureus*, sugerindo continuidade de estudos a respeito de sua atividade antimicrobiana.

Palavras-chave: Caatinga, Planta, Bactérias, antioxidante, *Ximenia americana*.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Ximenia americana* L. (OLACACEAE)

Janderson Weydson Lopes Menezes da Silva^{1,4}, Jorge Belém Oliveira Júnior¹, Walter Bernhard Heinrich Ebberts II¹, Valquíria Bruna Guimarães Silva⁴, João Victor de Oliveira Alves⁴, Daivyane Aline Mota da Rocha¹, Catarina Maria Cataldi Sabino de Araújo², Fábio André Brayner^{1,3}.

¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Departamento de Parasitologia, Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE).

²Departamento de Parasitologia, Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE).

³Laboratório de Microscopia Eletrônica, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco.

⁴Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco.

INTRODUÇÃO: A caatinga é um bioma presente na região semiárida brasileira que contém plantas totalmente adaptadas ao clima bastante seco. Dentre a grande diversidade de plantas encontradas nesse bioma, a *Ximenia americana* que também é conhecida popularmente como ameixa-do-mato possui dentre as principais indicações locais o uso em infecções e inflamações. **OBJETIVO:** O presente estudo tem como objetivo determinar e avaliar atividade antioxidante presente no extrato etanólico das folhas de *Ximenia americana*. **METODOLOGIA:** As amostras de *X. americana* foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau e depositadas no Herbário do Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco (96261/IPA-PE). Em 100mL de etanol foram adicionados 10g do pó das folhas, foi diluído em 100mL de etanol, a solução foi deixada sobre agitação por 30 minutos, filtrada, rotaevaporada e por fim armazenada à 8°C. A atividade de radical livre de DPPH dos extratos foi realizada de acordo com a BrandWilliams et al. com algumas modificações. As medições foram realizadas em triplicata e suas atividades de eliminação foram calculados com base no percentual de redução do DPPH. **RESULTADOS:** Foi observado que o extrato etanólico das folhas de *X. americana* apresentou atividade antioxidante de 94,3%, à qual foi demonstrada em porcentagem de inibição de radicais livres na concentração de 500µg/mL, comparada aos padrões de ácido gálico (72,4%), ácido ascórbico (76,2%) e quercetina (75,4%). Na terapia popular a *X. americana* é bastante utilizada como anti-inflamatório e cicatrizante. Estudos revelam a análise da ação antioxidante das folhas, frutos e raiz dessa espécie vegetal. Outros estudos citam que alguns fatores (temperatura, umidade, local e radiação) podem influenciar na ação biológica do vegetal. **CONCLUSÃO:** Diante disso, este estudo pontua que o extrato etanólico das folhas de *X. americana* possui ação antioxidante, sugerindo a continuidade de estudos a respeito de sua atividade antioxidante.

Palavras-chave: Caatinga, Planta, DPPH, antioxidante, *Ximenia americana*.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cantinoa Mutabilis*

Ana Flávia Freitas de Carvalho¹, Ana Paula de Oliveira¹, Amanda Leite Guimarães¹, Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida¹, Angélica Maria Lucchese², Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo¹

¹Núcleo de Estudos e Pesquisas em Plantas Mediciniais (NEPLAME) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, ²Laboratório de Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Departamento de Ciências Exatas, UEFS

Cantinoa mutabilis é uma espécie pertencente a família Lamiaceae, possui ampla faixa de distribuição por toda a América. Conhecida popularmente como alfazema, vem sendo utilizada com fins medicinais, por suas propriedades anti-inflamatórias, antiespasmódicas. Caracterizar os componentes majoritários do óleo essencial de *Cantinoa Mutabilis*. As folhas de *C. Mutabilis* foram coletadas no município de Petrolina-PE, no horto de plantas medicinais Madre Paulina, em Novembro de 2017. Em seguida, o material fresco foi submetido ao processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger por 2h, para obtenção dos constituintes voláteis. Ao final do processo, o óleo essencial foi extraído da fase aquosa após o congelamento desta, e posteriormente enviado para caracterização por CG-EM, uma corrida cromatográfica foi conduzida seguindo os mesmos parâmetros descritos por Marques et al., (2018), em aparelho Shimadzu CG-2010, acoplado a um detector de massas modelo CG/EM-QP 2010 Shimadzu² com energia de ionização programada para 70 eV. A identificação dos compostos se deu por comparação dos espectros de massas, dos componentes do óleo, com a biblioteca do aparelho (NIST 11). Foi possível analisar que os componentes majoritários do óleo essencial são: biciclo (12,48%), seguindo do β -pineno (10,18%), acetato de pinocarvil (9,0%), guaiol (8,49%), bulnesol (4,56%). Estudos científicos colaboram com a comprovação das propriedades biológicas dos componentes isolados, a exemplo do β -pineno. Os resultados obtidos acrescentarão dados a fitoquímica do gênero, visto que à espécie possui poucos relatos na literatura.

Palavras-Chave: *Cantinoa Mutabilis*, óleo essencial, composição química.

CONCENTRAÇÃO DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS TOTAIS EM FRUTOS DE *Libidibia ferrea* MICORRIZADA E CULTIVADA EM CAMPO POR 20 MESES

Brena Coutinho Muniz^{1,3}; Emanuela Lima dos Santos^{2,3}; Francineyde Alves da Silva⁴; Fábio Sérgio Barbosa da Silva^{1,2,3}

¹ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada, Universidade de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

³ Laboratório de Análises, Pesquisa e Estudos em Micorrizas, Universidade de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

⁴ Laboratório de Tecnologia Micorrízica, Universidade de Pernambuco, Petrolina, Brasil

Libidibia ferrea ou pau-ferro, espécie ocorrente na Caatinga, é utilizada pela população para fins medicinais. Alguns compostos do metabolismo primário, como os carboidratos, participam da formação das moléculas do anabolismo secundário, que conferem ação terapêutica. O pau-ferro forma simbiose mutualística com fungos micorrízicos arbusculares (FMA), que podem levar ao aumento na produção de compostos bioativos nesse vegetal. Este estudo teve como objetivo quantificar a produção de carboidratos solúveis totais em frutos de *L. ferrea* estabelecida em campo, em função da inoculação com FMA. Foram utilizados quatro tratamentos de inoculação: *Acaulospora longula*, *Claroideoglossum etunicatum*, *Gigaspora albida* e controle sem inoculação. Após 20 meses em campo experimental, 2 g do fruto foram macerados em 20 mL de metanol 80 % por 10 dias e os carboidratos solúveis totais doseados pelo método de fenol-sulfúrico. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5 %). A concentração de carboidratos totais nos frutos das plantas micorrizadas com *A. longula* não diferiu do controle. Por outro lado, plantas inoculadas com *C. etunicatum* e *G. albida* apresentaram redução nos carboidratos em relação ao controle. Pode-se inferir que os carboidratos solúveis totais estejam sendo utilizados na produção de metabólitos secundários nos frutos de pau-ferro, considerando que são precursores de diversos compostos fenólicos; por isso, é importante a quantificação de compostos secundários em frutos desta leguminosa associada a FMA. Conclui-se que a micorrização não maximiza os teores de carboidratos solúveis totais em frutos de *L. ferrea* cultivada em campo por 20 meses.

Palavras-chave: pau-ferro, FMA, compostos bioativos.

DIAGNÓSTICO DA SÍFILIS PELO TESTE DE FLOCULAÇÃO NÃO TREPONÊMICO E SEU IMPACTO SOCIAL: UMA REVISÃO

Mateus Domingues de Barros¹; Manoel Miguel da Silva filho¹; Giselly Viana Nascimento¹;
Mariana Aragão Matos Donato²

¹ Faculdade Integrada de Pernambuco 2. Faculdade integrada de Pernambuco

Introdução: A sífilis é uma patologia de origem bacteriana do agente etiológico *Treponema pallidum* que cuja ação resulta em malefícios a saúde do homem, sendo transmitido pela via sexual e placentária. Atinge em grande proporção homens e mulheres de baixo grau de escolaridade, derivado muitas vezes pela falta de informação a respeito da doença. O diagnóstico precoce se torna um meio preciso para evitar uma piora significativa no quadro que resulta em exantema maculoso na face, lesões e até óbito. Na suspeita de sífilis é recomendado o teste de floculação não treponêmico como auxílio de confirmação diagnóstica. **Objetivo:** O presente trabalho tem por finalidade demonstrar como o teste de VDRL influencia positivamente na saúde pública em Pernambuco no combate à sífilis. **Metodologia:** É uma revisão integrativa da literatura, com caráter descritivo e exploratório. Um levantamento bibliográfico foi realizado no período de Outubro a Novembro de 2017 nos principais sítios de busca como *Scielo* e *Google acadêmico*. **Revisão:** O teste de VDRL se enquadra na classe não treponêmica, é utilizado como triagem com o soro puro e diluído do paciente, detectando anticorpos denominados anticardiolipínicos. Esses anticorpos não são específicos para a bactéria *Treponema pallidum* em especial, mas estão presentes durante a sífilis e caso exista reação durante o teste é realizado o fator treponêmico de preferência ELISA para servir de confirmatório. O teste é de fácil execução e interpretação, pode ser realizado em laboratórios de pequeno porte em cidades que apresentam difícil localização. **Conclusão:** O VDRL deve ser incentivado em todas as instâncias do serviço público por seu elevado grau de confiabilidade e facilidade técnica por parte dos profissionais do ramo laboratorial.

Palavras Chave: saúde-pública, direito, DST, patologia.

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLOGICO DO CARCINOMA SÓLIDO GRAU II EM CADELA: RELATO DE CASO

Natália Cyntia Alves Medeiros¹, Lucilo Bioni da Fonseca Filho², Lourival Barros de Sousa Brito Pereira², Isabela Cândida da Silva Alcântara¹, Priscilla Virgínio de Albuquerque³, Gilcifran Prestes de Andrade³, Darlan Victor Cavalcanti¹, Júlio César dos Santos Nascimento⁴

¹Discente do curso de Medicina Veterinária em Centro Universitário Maurício de Nassau.

²Médico veterinário.

³Doutoranda em Ciência Animal Tropical na Universidade Federal Rural de Pernambuco.

⁴Professor em Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Neoplasias mamárias representam cerca de 50 a 70% de todas as neoplasias que acometem as cadelas. Ocorre principalmente em animais com faixa etária entre 7 e 12 anos e as raças de maior incidência são Poodle, Dachshund, Yorkshire, Cocker Spaniel, Pastor-alemão e animais sem raça definida (SRD). Para o diagnóstico definitivo, é indispensável à realização do exame histopatológico. A remoção cirúrgica completa da neoplasia é a modalidade de tratamento que confere maior probabilidade de cura e sobrevida para o animal. Relatar o laudo do exame histopatológico de uma cadela diagnosticada com carcinoma sólido grau II. Foi atendida em uma clínica veterinária, uma cadela de raça Poodle com 14 anos de idade, com queixa de neoformações em glândula mamária. O animal não era castrado, tinha uma dieta a base de ração super premium e não tinha histórico de administração de medicamentos anticoncepcional. Ao exame físico observou-se nódulos na mama inguinal, maior do que 5cm, multilobulado, de superfície lisa e indolor. O animal foi submetido à cirurgia e o material foi fixado em formaldeído a 10% para avaliação histopatológica. No laudo histopatológico foi visualizada neoplasia epitelial, bem delimitada, não encapsulada, expansiva, de padrão sólido com áreas tubular sustentadas por tecido fibrovascular delgado. As células eram no formato cuboide a redondas, com citoplasma escasso a moderado, levemente eosinofílico de limites citoplasmáticos imprecisos. Os núcleos apresentavam-se redondos, ovalados, de cromatina frouxa de um a dois nucléolos proeminentes. Havia moderada anisocitose e anisocariose, pleomorfismo celular e nuclear acentuado. Foram observadas cinco figuras de mitoses em dez campos na objetiva de 40x, extracelular, moderada matriz mixoide fracamente basofílica sem atipias. Não foram vistas alterações histológicas em linfonodos axilares. A grande importância do diagnóstico precoce desta neoplasia que é considerada agressiva e de poder invasivo, assegurando-se um bom prognóstico ao paciente.

Palavras-chave: cadela, diagnóstico, histopatológico, neoplasia.

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DO CARCINOMA TÚBULO-PAPILAR SIMPLES GRAU III EM GATA: RELATO DE CASO

Lourival Barros de Sousa Brito Pereira¹, Lucilo Bioni Da Fonseca Filho¹, Natália Cyntia Alves Medeiros², Gabriella Mignac Mendonça Wanderley², Homero Firmo Pessoa³, Nicolli De Albuquerque Leal Gomes D'Alcantara², Jordy Diniz De Oliveira Lima¹, Júlio César Dos Santos Nascimento⁴

¹Médico veterinário, ²Discente do curso de Medicina Veterinária em Centro Universitário Mauricio de Nassau. Recife-PE Brasil. E-mail: contato.nataliacyntia@hotmail.com

³Médico veterinário. Recife-PE Brasil. E-mail: hfpessoa@hotmail.com

⁴Professor em Centro Universitário Mauricio de Nassau, área de Medicina Veterinária. Recife-PE Brasil. E-mail: juliozootecnista@hotmail.com

As neoplasias mamárias representam o terceiro tipo mais frequente de tumores em felinos. Alguns Fatores estão relacionados com o seu desenvolvimento como, idade media entre dez a doze anos, a raça e influência hormonal. Para diagnostico definitivo é necessário exame histopatológico, que determina o tipo histológico e o grau de malignidade. O tratamento mais utilizado é a exérese cirúrgica, entretendo a quimioterapia adjuvante pós-operatório é indicado na tentativa de aumentar o tempo de sobrevida do animal. Objetivou-se com este trabalho relatar o caso clínico de um felino diagnosticado com carcinoma túbulo-papilar simples grau III. Foi atendido em uma clínica veterinária um felino, fêmea, sem raça definida, com cinco anos de idade, não castrada com queixa de neofomações em mama. Foi realizado a exérese cirúrgica das duas cadeias mamárias, colocados em formol a 10% e encaminhado para confecção de lâminas histológica. No laudo do exame histopatológico, foi visualizada proliferação epitelial formando papilas e estruturas irregulares. Observou-se ainda infiltração em tecido conjuntivo peritumoral e áreas de desmoplasia e necrose de coagulação. As células neoplásicas apresentavam um moderado pleomorfismo, com núcleos arredondados. Os nucléolos apresentavam-se proeminentes, e por vezes múltiplos. Os citoplasmas eram ora escassos, ora abundantes e acidofílicos, muitas vezes claros e vacuolizados. Foram vistos mais de vinte mitoses em dez campos de 40x e as margens estavam livres de células neoplásicas. O animal foi submetido à quimioterapia adjuvante de protocolo carboplatina e gencitabina. Sabendo que 80% das neoplasias mamárias em gatas são malignas, de alto poder metastático e muitas vezes fatal, faz-se necessário a realização do exame histopatológico para determinar o tipo histológico, o grau de malignidade da neoplasia e com isso poder instituir uma terapia adequada dando ao animal um maior tempo de sobrevida ao paciente.

Palavras-Chaves: cirurgia, neoplasia, quimioterapia

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DO LINFOMA DE CÉLULAS PEQUENAS EM CÃO: RELATO DE CASO

Lourival Barros de Sousa Brito Pereira¹, Lucilo Bioni Da Fonseca Filho¹, Natália Cyntia Alves Medeiros², Gabriella Mignac Mendonça Wanderley², Homero Firmo Pessoa³, Nicolli De Albuquerque Leal Gomes D'Alcantara¹, Jordy Diniz De Oliveira Lima³, Júlio César Dos Santos Nascimento⁴

¹Médico veterinário. Recife-PE Brasil, ²Discente do curso de Medicina Veterinária em Centro Universitário Mauricio de Nassau. Recife-PE Brasil³, Médico veterinário⁴, Professor em Centro Universitário Mauricio de Nassau, área de Medicina Veterinária. Recife-PE Brasil. E-mail:juliozootecnista@hotmail.com

O linfoma é uma neoplasia originada em órgãos linfohematopoéticos, comum na população canina. A faixa etária de animais comumente diagnosticada com linfoma é entre cinco e onze anos. Esta neoplasia é classificada de acordo com a localização anatômica e os sinais clínicos são inespecíficos. Para diagnóstico definitivo é necessário a realização do exame histopatológico e o tratamento de eleição é a poliquimioterapia. Objetivou-se com este trabalho relatar o caso de um canino diagnosticado com linfoma de células pequenas. Foi atendido em uma clínica veterinária um canino, da raça Rottweiler, fêmea, com cinco anos de idade com queixa de nódulos em região da mama. Ao exame físico foi observado um único nódulo em mama inguinal direita, menor que 3 cm e aumento de linfonodo poplíteo direito. Foi realizada biópsia excisional do linfonodo, fixado em formol 10% para avaliação histopatológica. Neste exame foi identificada perda parcial da arquitetura do linfonodo devido à proliferação de células redondas neoplásicas, monomórficas, não encapsulada, pobremente delimitada, arranjadas em manto, com escasso estroma fibrovascular. As células linfocíticas pequenas correspondiam a 90%, tinham citoplasma escasso, fracamente basofílico, núcleo arredondado com cromatina frouxa, múltiplos nucléolos e proeminentes. Foram visto discreta anisocitose e anisocariose e pleomorfismo celular e nuclear moderados, com 15 figuras de mitoses em 10 campos na objetiva de 40x. Ocasionalmente foi observada necrose individual de células neoplásicas. Havia células neoplásicas no seio subcapsular e invasão capsular, concluindo se tratar de linfoma de células pequenas. Posteriormente o animal foi submetido à poliquimioterapia de protocolo ciclofosfamida, vincristina e prednisona. O diagnóstico definitivo é importante para diferenciar de outras enfermidades que causam linfadenomegalia. A poliquimioterapia é a modalidade de terapêutica mais utilizada e eficaz no tratamento de cães com linfoma.

Palavras-Chave: histopatologia, neoplasia, poliquimioterapia.

DINHEIRO COMO POTENCIAL VETOR PARA ESTABELECIMENTO DE INFECÇÕES

Nicole Dafne Rocha Acioli Tavares¹; Eduarda Alves de Paula Melo Santos²; Nathalia Joanne Bispo Cezar³.

¹ Docente do curso de Biomedicina Unifavip Wyden; ² Docente do curso de Biomedicina Unifavip Wyden; ³ Professora Dra. do curso de saúde da Unifavip Wyden

O dinheiro é considerado elo financeiro entre diversas nações. Diferentes estudos têm elucidado o acúmulo de bactérias e cistos de parasitas em cédulas. Considerando-se seu valor comercial, o dinheiro é o principal objeto circulado no mundo. Sendo manuseado e repassado para microbiotas diversas e devido ao fato de diferentes doenças serem transmitidas a partir dessa via, o dinheiro funciona como vetor para o desenvolvimento de patologias. Destacar as principais bactérias e parasitas que contaminam o dinheiro, evidenciando este objeto como um vetor para o estabelecimento de infecções. Foi realizado um levantamento bibliográfico em junho de 2018. Artigos científicos publicados nas bases de dados: *Scielo* e *PubMed*. Foram utilizados artigos publicados nos últimos seis anos. Não há conflito de interesse entre as literaturas. Com base na literatura, foi possível constatar que em todas as análises de cédulas foram encontradas tanto bactérias com potencial de infecção quanto ovos de parasitas que tem o humano como hospedeiro, num total de 270 cédulas coletadas do centro de São Mateus-ES. Dentre as espécies bacterianas mais evidenciadas destacam-se: Gram positivas: *Staphylococcus sp.* (45%); Gram negativas: *Klebsiella pneumoniae* (50%), *E.coli* (12,5%), *Enterobacter* (12,5%) e *Shigela* (25%). No que diz respeito à presença de parasitas, estudo avaliando com 250 cédulas na feira municipal de São Luis apontou maior frequência de ovos de parasitas intestinais como: *A. lumbricoides*, *Taenia sp.*, *E. histolytica* não sendo evidenciado mais de um gênero/espécie por cédula. Na comparação entre nível de contaminação moeda/cédula a moeda foi classificada como pouco contaminante. Esse estudo possibilitou esclarecer a forma pela qual o dinheiro pode ser um vetor para transmissão de diferentes infecções. Adicionalmente, essa pesquisa permitiu trazer informações que alertam a população sobre como a prática de higienização, antes e após o manuseio de cédulas pode evitar o estabelecimento de infecções graves.

Palavras-chave: dinheiro, infecções, bactérias, parasitas.

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DA FOLHA DE *Aspidosperma pyrifolium*

Daivyane Aline Mota da Rocha^{1,4}, Jorge Belém Oliveira Júnior^{1,5}, Catarina Fernandes de Freitas^{1,5}, Fernanda Cristina Gomes de Lima^{1,5}, Janderson Weydson Lopes Menezes da Silva¹, Márcia Vanusa da Silva², Dyana Leal Veras¹, Luiz Carlos Alves^{1,3,4}

¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Departamento de Parasitologia, Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE), ²Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco³, Setor de Microscopia Eletrônica, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco.

⁴Universidade de Pernambuco.

⁵Pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco.

O uso inadequado e indiscriminado de antimicrobianos pode desencadear um processo de resistência aos antimicrobianos em diversas espécies bacterianas, reduzindo as alternativas terapêuticas para o tratamento de infecções. Algumas espécies vegetais apresentam ação antimicrobiana, tornando-se alvos para estudos frente microrganismos multidroga-resistentes envolvidos em infecções. Este estudo pretende realizar uma triagem e determinar a ação antimicrobiana de extrato aquoso da folha de *Aspidosperma pyrifolium* frente cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. A coleta do material biológico de *A. pyrifolium* foi realizada no Parque Nacional do Catimbau (SISBIO 26743-1), posteriormente depositada no Herbário do Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco (85734/IPA-PE). Foram pesados 10 g do pó das folhas e diluídos em água destilada (100 mL). Ao decorrer de 30 min de condensação, o extrato foi filtrado, liofilizado e corretamente armazenado. Foram utilizadas as seguintes cepas bacterianas: *S. aureus* (ATCC 29213), *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *A. baumannii* (ATCC 19606), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) e *E. coli* (ATCC 25922). As concentrações para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato aquoso variaram: 400 a 6,25 µg/mL. A concentração bactericida mínima (CBM) foi avaliada por semeio bacteriano em ágar BHI, seguido por teste de colorimetria com 20 µL de resazurina para validar os resultados através da viabilidade celular bacteriana. Foi observado que nas concentrações avaliadas do extrato aquoso, não foi possível determinar a CIM das cepas bacterianas, impossibilitando a determinação da CBM, sugerindo que maiores concentrações podem apresentar ação antimicrobiana. Sendo assim, o presente estudo atesta que o extrato aquoso da folha de *A. pyrifolium* nas concentrações avaliadas não se mostraram promissores na ação antimicrobiana diante de cepas bacterianas, indicando a execução de pesquisas futuras utilizando maiores concentrações do extrato aquoso.

Palavras-chave: extrato aquoso, planta, bactéria.

ESTUDOS DE DOCKING DE MONOTERPENOS E COMPOSTOS RELACIONADOS COM POTENCIAL REPELENTE CONTRA *Aedes aegypti*.

Eladio Cesar Pinto¹; Thiego Gustavo Cavalcante de Carvalho¹; Edilson Beserra de Alencar Filho¹

¹Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF)

Na Química Medicinal moderna, técnicas de simulação computacional tem se mostrado importantes aliados na investigação de Novas Entidades Químicas. Os estudos de docking visam obter a melhor conformação e orientação de ligantes em um alvo macromolecular, aplicando algoritmos de busca e funções de classificação. A dengue é uma doença viral transmitida através da picada de mosquitos fêmeas de *Aedes aegypti*. Sendo a proteína AaegOBP1 presente inseto como um candidato promissor para o desenvolvimento de novos repelentes, apresentando-se assim como alvo para investigação de docking molecular. Este trabalho tem como objetivo o estudo de docking de monoterpênos e compostos relacionados frente ao sítio de ligação, a proteína AaegOBP1 do *Aedes aegypti*, visando estabelecer os melhores modos de interação e possíveis relações estrutura-atividade. As estruturas químicas dos compostos foram construídas no programa ACD/ChemSketch®, seguido por uma otimização de energia inicial no nível semi-empírico PM3 no programa Gaussian 09W. O docking foi realizado no programa Autodock 4.2. O sítio de ligação no alvo (“grid box”) foi definido com base em um ligante da proteína AaegOBP1. Os potenciais a serem calculados foram definidos pelo programa com base nos tipos de átomos dos ligantes. O docking dos monoterpênos e compostos relacionados foi realizado comparando seus modos de interação e energias de estabilização, na perspectiva de avaliar seu potencial como agente repelente frente à proteína em estudo. Diante dos parâmetros de docking especificados, dos 55 compostos testados o melhor resultado encontrado em um valor de *binding energy* igual a -8,64 Kcal/Mol (com dimensões da caixa 30x30x32 e método de cálculo *Long*). Outros monoterpênos tiveram seus modos de interação determinados e comparados com o ligante nativo semelhantes. Os resultados deste trabalho direcionam os compostos mais promissores para a avaliação quanto ao seu potencial repelente em *A. aegypti*.

Palavras chave: docking molecular, monoterpênos, *Aedes aegypti*;

FERMENTAÇÃO SUBMERSA PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS POR FUNGOS FILAMENTOSOS ESTOCADOS NA MICOTECA URM

Joenny Maria da Silveira de Lima¹; Marcela Vanessa Dias da Costa¹; Cristina Maria de Souza Motta²

¹ Laboratório de Taxonomia e Biotecnologia de Fungos-Micoteca URM, Departamento de Micologia, CB/UFPE

² Universidade Federal de Pernambuco- Micoteca URM, Departamento de Micologia, CB/UFPE

A celulase é formada por um complexo de enzimas que hidrolisam oligossacarídeos e polissacarídeos e tem como principal papel atuar na degradação da celulose. A busca de meios alternativos para a produção de celulase em escala industrial surge como uma forma de diminuir gastos e otimizar este processo. A produção de enzimas celulolíticas através de fungos filamentosos é cada vez mais utilizada pois está associada diretamente a uma excelente produção. Atualmente esses microrganismos são utilizados na produção de alimentos, no processo de biodegradação e tratamento biológico de efluentes, além de possuírem um alto índice de produção enzimática. À vista disso, o presente trabalho teve como finalidade avaliar a produção das enzimas endoglucanase (CMCase) e exoglucanase (Fpase) por 3 isolados fúngicos que se encontram em processo de identificação na Micoteca URM/UFPE. Inicialmente foi realizado um screening em placa através de medição de halo enzimático. Para a fermentação submersa, foi utilizado meio enriquecido com carboximetilcelulose e em seguida os frascos foram inoculados com 1 mL da solução de esporos e incubados a 30°C em estufa BOD durante 7 dias. As atividades de Fpase e CMCase foram realizadas através do método de avaliação do conteúdo de açúcares redutores determinado pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico(DNSA). A atividade foi lida espectrofotometricamente a 540 nm, e uma unidade (U) de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de glicose por minuto. Todos os isolados se mostraram produtores, com as atividades máximas encontradas pelo isolado *Penicillium sp.* (T14) de 2,03 U/mL e 1,43 U/mL, para FPase e CMCase, respectivamente. Desta forma, apenas o isolado *Penicillium sp.* (T14) se mostrou um bom promissor no estudo para produção de enzimas celulásicas e está sendo indicado para posterior otimização e melhoramento do processo enzimático.

Palavras-chave: endoglucanase, exoglucanase, carboximetilcelulose.

EFEITOS DO ESTRESSE POR SEPARAÇÃO MATERNA NA LACTAÇÃO SOBRE COMPORTAMENTO ALIMENTAR

Renata Alves de Sousa¹, Julliet Araújo de Souza², Felipe Leitão de Souza³, Fernanda Cicalese Ourem Costa⁴, Luana Cruz Beltrão⁴, Gabriel Araújo Tavares³, Matilde Cesiana da Silva⁵, Sandra Lopes de Souza⁶.

¹ Centro de Biociências – Universidade Federal de Pernambuco

² Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento- Universidade Federal de Pernambuco

³ Programa de Pós-graduação em Nutrição – Universidade Federal de Pernambuco

^{4,5} Departamento de nutrição – Universidade Federal de Pernambuco

⁶ Departamento de Anatomia - Universidade Federal de Pernambuco

Introdução: Experiências adversas no início da vida podem atuar sobre o desenvolvimento do sistema nervoso e consequentemente sobre sua estrutura e função adulta. Um exemplo é o estresse por separação materna durante a lactação. Animais separados apresentam alterações no comportamento emocional. Menos documentados são os efeitos sobre o comportamento alimentar. **Objetivo:** Investigar, através de uma revisão da literatura, os efeitos do estresse por separação materna sobre o comportamento alimentar. **Metodologia:** Artigos do PubMed, Science Direct e Web of Science oriundos da combinação do termo “maternal separation” com outras 9 combinações diferentes - “hedonic eating”, “palatable diet”, “food reward”, “reward system”, “feeding behavior”, “eating behavior”, “homeostatic eating”, “chow”, ou “standard diet”- foram incluídos desde que avaliassem a associação entre a separação materna e a avaliação de, pelo menos, um parâmetro do comportamento alimentar. **Revisão:** A separação materna foi associada ao aumento do consumo de solução de sacarose e aumento de ingestão de dieta palatável. Por outro lado, alguns estudos não mostraram nenhum efeito ou efeito contrário sobre esses e outros parâmetros do comportamento alimentar, ressaltando a necessidade de mais estudos para uma melhor compreensão dos efeitos sobre esse comportamento. Tem-se especulado que os alimentos com alto teor de gordura e carboidratos simples diminuem a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, que medeia a resposta ao estresse, promovendo conforto a esses organismos com experiências adversas precoces, justificando o aumento da ingestão de solução com sacarose e da dieta palatável. Considerando a epidemia de sobrepeso e obesidade associada ao aumento da ingestão de alimentos ricos em açúcares e gorduras e, consequentemente, em calorias, esses resultados demonstram a influência do ambiente perinatal sobre o comportamento alimentar na vida adulta, sobretudo sobre a ingestão de dieta palatáveis. **Conclusão:** O estresse por separação materna altera o comportamento alimentar, aumentando a preferência por alimentos palatáveis.

Palavras-chave: Separação materna. Estresse neonatal. Comportamento Alimentar.

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES AUMENTAM OS TEORES DE FÓSFORO EM FRUTOS DE *Libidibia ferrea* ESTABELECIDO EM CAMPO

Guilherme Viana de Oliveira¹; Emanuela Lima dos Santos^{1,2}; Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio⁴; Francineyde Alves da Silva³; Fábio Sérgio Barbosa da Silva^{1,2}

¹Laboratório de Análises, Pesquisas e Estudos em Micorrizas – LAPEM, Universidade de Pernambuco,

²Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco, Recife, PE.

³Laboratório de Tecnologia Micorrízica - LTM, Universidade de Pernambuco, PE.

⁴Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE

Libidibia ferrea, também conhecida como pau-ferro, possui ação terapêutica, sendo utilizada pela população no tratamento de diabetes, de anemia e de doenças respiratórias e tais benefícios estão diretamente associados à presença de compostos do metabolismo secundário. Considerando que as rotas anabólicas para síntese desses compostos demandam fósforo e os fungos micorrízicos arbusculares aumentam os teores desse macronutriente nos tecidos vegetais, foi testada a hipótese de que a aplicação de FMA selecionados incrementa os teores de P em frutos de *L. ferrea*. O objetivo do trabalho foi avaliar o teor de fósforo nos frutos de *L. ferrea*, micorrizada ou não, estabelecida em campo. O estudo foi realizado no campo experimental do Laboratório de Tecnologia Micorrízica da UPE *Campus* Petrolina, com delineamento em seis blocos casualizados e quatro tratamentos de inoculação: *Acaulospora longula*, *Claroideoglossum etunicatum*, *Gigaspora albida* e controle sem inoculação. Após 42 meses de transplante, os frutos foram coletados, limpos, secos em estufa e triturados. Com esse material vegetal foi determinada a concentração de P, utilizando-se o método de digestão nitro-perclórica. A inoculação com *G. albida* proporcionou aumento de 14,97 % na concentração de P nos frutos de *L. ferrea* em relação ao controle, o que não ocorreu nos frutos de plantas inoculadas com *C. etunicatum* e com *A. longula*. Conclui-se que a aplicação de *G. albida* pode aumentar a concentração de P nos frutos de *L. ferrea*. Estudos futuros devem verificar se a aplicação de FMA também incrementa a produção de compostos fenólicos nos frutos dessa leguminosa.

Palavras-chave: metabólitos secundários, nutrientes, FMA, inoculação.

INFLUENCIA DA ALIMENTAÇÃO E MICROBIOMA INTESTINAL NAS DOENÇAS AUTOIMUNES

Gerlane de Santana Silva¹, Idjane Santana de Oliveira¹

¹Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) - Centro Acadêmico de Vitória (CAV)

O Trato Gastrointestinal humano (TGI) é um micro ecossistema intensamente povoado por microrganismos comensais e simbiotes, que integram o sistema de homeostase corporal, participando de processos metabólicos, fisiológicos, nutricionais e imunológicos. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a influência da alimentação no microbioma intestinal que por sua vez influenciam nas doenças autoimunes, desde o surgimento até o tratamento dessas doenças. A metodologia consistiu em analisar artigos em inglês encontrados nas bases de dados PubMed e SciELO, entre os anos de 2011 a 2018, com as seguintes palavras-chave: “intestinal microbiota x autoimmune disease”, “food x intestinal microbiota x autoimmune disease”. Foram encontrados 14 artigos sobre esse tema. O microbioma intestinal atua como uma barreira contra agentes patogênicos, produzindo substâncias inibitórias que impedem a penetração destes agentes na mucosa intestinal. Vários estudos sinalizam que colonização intestinal pode ser modulada a partir da alimentação, e com uso frequente de antibióticos pode ser alterada negativamente, possibilitando acarretar na alteração da função do TGI. O desequilíbrio (disbiose) do microbioma intestinal está intimamente ligado com a dieta, influenciando significativamente na diversidade deste microbioma, podendo afetar na absorção de nutrientes. Considerando que o microbioma intestinal apresenta funções relacionadas ao sistema imune, sistema neuroendócrino, além da digestão, desequilíbrio no microbioma intestinal pode favorecer o surgimento de doenças autoimunes, exemplo diabetes tipo I, esquizofrenia e transtornos do espectro do autismo. Esta revisão vem apoiando que tanto a composição do microbioma intestinal quanto os diferentes padrões alimentares são fatores que influenciam direta e significativamente em implicações voltadas para a saúde humana no que diz respeito ao desenvolvimento de doenças autoimunes não intestinais, bem como o tratamento desse tipo de doença. Devido ao surgimento numeroso de distúrbios imunológicos fica evidente a necessidade de compreender a importância da interação entre a dieta, microrganismos intestinais e sistema imunológico.

Palavras-Chave: microbiota intestinal, alimentos, doenças autoimunes.

LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA: RELEVÂNCIA DOS ACHADOS CITOGENÉTICOS

Eduarda Alves de Paula Melo Santos¹; Nicole Dafne Acioli Tavares¹; Nathalia Joanne Bispo Cezar¹

Discente Centro Universitário Vale do Ipojuca | Unifavip Wyden¹

A Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é uma doença neoplásica hematológica que se caracteriza por acúmulo de linfócitos B maduros no sangue, medula óssea, fígado e baço. Neste contexto, o diagnóstico citogenético é importante para fornecer diagnóstico preciso bem como melhor compreensão da evolução da patologia. Este estudo tem por objetivo descrever a importância da utilização de técnicas citogenéticas para o diagnóstico e acompanhamento de pacientes com LLC. Foi realizado um levantamento bibliográfico no mês de junho de 2018 utilizando-se artigos científicos das bases de dados: *Scielo* e *PubMed*. Como critérios de inclusão foram considerados trabalhos publicados nos últimos seis anos. Foram excluídos artigos publicados em períodos anteriores. Não há conflito de interesse entre as literaturas. A LLC se caracteriza por acometer os linfócitos mononucleados maduros principalmente pertencentes ao imunofenótipo tipo B. Essa neoplasia apresenta epidemiologia peculiar, acometendo indivíduos com idade mais avançada. Sua incidência varia de acordo com a condição étnica do paciente. A causa genética associada à LLC se baseia em pelo menos dois casos de indivíduos com este tipo de leucemia na família. O diagnóstico citogenético é fundamental para detecção de aberrações cromossômicas, estado mutacional das imunoglobulinas e anomalias numéricas (trissomia do 12). Neste contexto, vale destacar a alta sensibilidade da técnica de FISH que possibilita, a partir de múltiplas marcações, delimitar a região exata alterada. Com isso, é possível obter diagnóstico preciso e melhor eficiência no direcionamento do tratamento para cada caso. Com base neste estudo, foi possível concluir que a LLC se caracteriza por um comprometimento cromossômico estrutural e/ou numérico. Adicionalmente, foi possível constatar que os avanços da citogenética molecular têm permitido diagnósticos mais precisos e eficientes, bem como melhor prognóstico para maioria dos casos descritos.

Palavras chaves: leucemia, imunofenótipo, FISH.

NÍVEIS DE EXPRESSÃO DE KLF2 E KLF4 EM RECÉM-NASCIDOS COM MICROCEFALIA INFECTADOS POR ZIKA

Thaysa Walléria de Aragão Santos^{1,4}, Andriu dos Santos Catena^{1,4}, Sandra Mattos², José Luiz de Lima Filho^{3,4}, Danyelly Bruneka Gondim Martins^{3,4}

¹ Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde – LIKA/UFPE

² Rede de Cardiologia Pediátrica Círculo do Coração (CirCor)

³ Departamento de Bioquímica - UFPE

⁴ Grupo de Prospecção Molecular e Bioinformática (ProspecMol), Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) – UFPE

O vírus da Zika (ZIKV) pode levar a alterações no desenvolvimento fetal, sendo sua principal sequela a microcefalia. Entretanto, outros efeitos causados pela infecção por ZIKV devem ser investigados, como alterações endócrinas e doenças cardiovasculares (DCVs). As KLF2 e 4 são fatores de transcrição que estão envolvidos na regulação de processos fisiológicos, incluindo o desenvolvimento cardíaco e alterações na adipogênese. Dessa forma, níveis de expressão aumentados em recém-nascidos (RNs) infectados por ZIKV podem contribuir para a predisposição ao desenvolvimento de Síndrome Metabólica (SMet) - risco aumentado de obesidade, diabetes e DCVs. Avaliar os níveis de expressão das KLF2 e 4 em RNs infectados por ZIK, relacionando-os com a predisposição de SMet. Sangue total de 20 RNs foi coletado na Paraíba para realização de teste de ELISA para ZIKV. Posteriormente, foi realizada a extração de RNA e a PCR quantitativa para verificação dos níveis de expressão dos genes KLF2 e 4. A análise estatística foi realizada no Prism. Após a qPCR de Beta-actina (gene de referência), apenas 19 RNs foram avaliados para análise do KLF2, sendo 7 positivos para ZIKV (ZIKV+) e 12 negativos (ZIKV-). Já para análise da KLF4, foram avaliados 14 RNs, sendo 6 ZIKV+ e 8 ZIKV-. Um total de 42,86% dos RNs ZIKV+ expressaram KLF2, enquanto apenas 33,33% dos RNs ZIKV- apresentaram expressão. Em relação a expressão do gene KLF4, 44,44% dos RNs ZIKV+ expressaram esse gene, e 40,00% dos RNs ZIKV-não expressaram. Não houve diferença significativa entre os grupos de RNs avaliados. Os genes KLF2 e KLF4 não parecem estar alterados em RNs descendentes de mães infectadas pelo ZIKV. Desta forma, a predisposição ao desenvolvimento de doenças cardíacas e SMet neste grupo de crianças deve ser avaliada através de um maior portfólio de genes.

Palavras-Chave: Zika, recém-nascido, síndrome metabólica.

PERFIL BACTERIANO EM SUPERFÍCIES E EQUIPAMENTOS, ANTES E DEPOIS DA DESINFECÇÃO, NA UTI (HU-UNIVASF)

Emanuel Sinério Ferreira Leite¹, Mirthes Maria Rodrigues Santana¹, Kátia Suely Batista Silva², Marília Wortmann Marques³, Cristiane Biasi⁴, Cristina Lumi Fukagawa⁵, Carine Rosa Naue⁶

¹Discente/Farmácia da Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf ²Discente/Enfermagem da Faculdade São Francisco de Juazeiro – FASJ Ramalina aspera

³Docente/Biologia Instituto Federal Farroupilha/Campus Panambi

⁴Pós- Doc pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

⁵Biomédica do Hospital universitário da Universidade Federal do vale do São Francisco ⁶Docente/Fisioterapia e Enfermagem da Faculdade São Francisco de Juazeiro – FASJ e Bióloga Hospital Universitário da Universidade Federal do vale do São Francisco

Superfícies e objetos contaminados são reservatórios e facilitam as infecções cruzadas. O objetivo foi avaliar o perfil bacteriano em superfícies e equipamentos, antes e depois da desinfecção diária. O experimento foi realizado na UTI do Hospital Universitário da Universidade do Vale do São Francisco. As amostras foram coletadas da mesma forma antes e depois da desinfecção diária com álcool 70%, em seis leitos, onde foram amostrados os seguintes itens: ventilador mecânico; botões de comando do monitor cardíaco; diafragma do estetoscópio; mesa de cabeceira; dispensador de soro/alimento; cortinas ao redor do leito; parede ao redor do leito e bomba de infusão contínua. Para coleta das amostras foram utilizados swabs embebidos em solução salina, que foram armazenados em tubo contendo BHI e enviados ao laboratório para identificação e realização do antibiograma. Utilizou-se o teste exato de Fisher para análise dos dados. Não houve diferença significativa na quantidade de bactérias isoladas antes e depois da desinfecção diária. Antes da desinfecção diária foram observados nove isolados: um de *Klebsiella pneumoniae*, cinco de *Acinetobacter baumannii*, um de *Enterococcus* sp. e dois de *Staphylococcus aureus*. Depois da desinfecção diária foram observados onze isolados: dois de *Acinetobacter baumannii*, quatro de *Enterococcus* sp. e cinco de *Staphylococcus aureus*. *Acinetobacter baumani* apresentou 57,14% de resistência a ampicilina + sulbactam, ceftriaxona, cefepime, meropenem e amicacina. 100% das *Klebsiella pneumoniae* foram resistentes a ampicilina e ampicilina + sulbactam. Para ciprofloxacino, amicacina, meropenem, gentamicina, ceftriaxona e tetraciclina as *K. pneumoniae* foram 100% sensíveis. Os *Enterococcus* sp. apresentaram 20% de resistência a ampicilina e 100% de sensibilidade a vancomicina. *Staphylococcus aureus* apresentou resistência de 100% a penicilina, 42,85% a eritromicina e 14,28% a gentamicina e 100% de sensibilidade a oxacilina. Conclui-se que a limpeza diária não diminui as populações bacterianas das superfícies e equipamentos e que as bactérias apresentam diferentes níveis de resistência.

Palavras-chave: UTI, equipamentos, bactérias.

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE CANDIDEMIA EM NEONATOS: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Thâmara Tallita da Silva Correia¹, Islane Cristina Martins¹, Josefa Elaine Silva Germinio¹,
Wéveny Bryan da Silva Correia¹.

¹ Universidade Federal de Pernambuco- UFPE

Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são uma das principais causas de morte nas unidades de terapia intensiva (UTIs). Neonatos de muito baixo peso submetidos à procedimentos médico-invasivos em UTI Neonatal são bastante acometidos por infecções fúngicas, sendo a candidemia a segunda infecção nosocomial mais frequentemente nos recém-nascidos (RNs) e que pode ser responsável por alterações do neurodesenvolvimento em até 70% dos recém-nascidos. Discutir os elevados índices de infecção e mortalidade a nível internacional das infecções por *Candida* em RNs. Realizou-se uma revisão da literatura atual, considerando artigos científicos recentes que versam sobre o tema abordado e disponibilizados em bases de dados como, SciELO, PubMed, MEDLINE e ScienceDirect. A susceptibilidade dos RNs a candidíase está relacionada com alterações no sistema imunológico e desequilíbrio da microbiota endógena. Existe uma variação geográfica significativa na prevalência de candidíase em neonatos cerca de 1,2% a 8,7%, esta incidência independe de condições de desenvolvimento do país, mas de fatores de risco aos quais os RNs são expostos. De modo geral, a espécie mais isolada em hemocultura de neonatos com a candidemia é a *Candida albicans*, sendo a terceira mais isolada em casos de sepse neonatal que constitui aproximadamente 60% das espécies de *Candida* isoladas em amostras clínicas. Porém, a epidemiologia das infecções vem sofrendo alterações e, espécies não-*albicans* estão ganhando destaque no cenário epidemiológico nacional e internacional, com até 50% dos casos de candidemia. Os principais agentes etiológicos de espécies não-*albicans* consistem em a *Candida tropicalis* (2%), *Candida parapsilosis* (34%) e *Candida glabrata* (4%). A candidíase é um problema significativo que acomete RNs causando grandes danos à sua saúde sendo a *Candida albicans* o principal agente etiológico.

Palavras-chave: fungos, *Candida*, infecção, neonatal, epidemiologia.

PERSPECTIVAS DO USO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO NA FOTOINATIVAÇÃO DE *Staphylococcus aureus*

Thâmara Tallita da Silva Correia¹, Sajid Farooq¹, Tania Matheus Yoshimura², Saulo de Toledo Pereira², Martha Simões Ribeiro², Josefa Elaine Silva Germinio³, Renato E. de Araujo¹

¹ Laboratório de Óptica Biomédica e Imagem – UFPE.

² Laboratório de Terapia Óptica –IPEN/SP.

³ Laboratório de Engenharia Biomédica-UFPE.

A inativação fotodinâmica antimicrobiana baseia-se no uso de um agente fotossensibilizador (FS), ativado por luz em comprimento de onda específico, para a destruição de micro-organismos. O processo leva a produção de espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singleto, que são citotóxicos para a célula alvo. Em nanopartículas metálicas, a luz pode induzir uma oscilação coletiva dos elétrons do metal, provocando o aumentando do campo elétrico próximo a nanoestrutura, que é percebido pelo FS. Nanocascas de ouro (núcleo de sílica / casca de ouro) apresentam atraente espectro de extinção óptico dentro da faixa de infravermelho próximo. O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* os efeitos da inativação fotodinâmica antimicrobiana associado ao Azul de Metileno (AM) assistida por nanocascas de ouro frente à cepas de *Staphylococcus aureus*. As nanocascas utilizadas nesse trabalho apresentam núcleo esférico de SiO₂ com diâmetro de 82,6 nm e cascas de ouro com espessura de 21,5 nm. As amostras foram submetidas a irradiação usando um LEDs vermelhos com emissão em $\lambda = 659$ nm, e expostas a tempos de irradiação de 0, 1, 3 e 5 minutos. A incubação do *S. aureus* com AM ou nanopartículas isoladamente não promoveu nenhuma citotoxicidade. Porém, quando o AM foi combinado com as nanocascas de ouro a redução dos microrganismos foi observada, após 1 min de irradiação. O uso de nanocascas no procedimento de fotoinativação reduziu 3 vezes o tempo de iluminação necessário para a erradicação total das células bacterianas. Nossos resultados indicam que as nanocascas de ouro são promissoras para aumentar o efeito fotodinâmico das células bacterianas.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, nanocascas, fotoinativação microbiana.

PITIRÍASE VERSICOLOR, MICOSE DE GRANDE IMPORTÂNCIA CLÍNICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Eduarda Alves de Paula Melo Santos¹; Nicole Dafne Acioli Tavares¹; Tatianny de Assis Freitas Souza¹.

Discente Centro Universitário Vale do Ipojuca | Unifavip Wyden ¹

A pitiríase versicolor é uma infecção fúngica. Ocorre na pele e tem como agente desenvolvedor a *Malassezia*. A micose se ocasiona pela ausência da pigmentação nas lesões. Observa-se que as características da doença são de grande prevalência em homens, nas estatísticas ocupam 57,14% da população. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura a respeito das características da DOENÇA FÚNGICA PITIRÍASE VERSICOLOR. Foi realizado um levantamento bibliográfico para revisão da literatura proposta. Os periódicos originais consultados foram localizados nas seguintes bases de dados: Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Google acadêmico, publicados no período 2013 a 2018, com os seguintes termos: “Pitiríase Versicolor”, “*Malassezia*”; "Epidemiologia". Ao todo foram selecionados 5 artigos. Os critérios de exclusão foram: artigos incompletos e/ou artigos com temática diversa do objetivo do estudo. A pitiríase versicolor se caracteriza pela alteração da pigmentação cutânea da pele, popularmente conhecida como “pano branco”, atinge as regiões do pescoço, face, tronco anterior e posterior e o dorso. Tendo como principais consequências, além da hipopigmentação da pele, mais raramente, circinadas, hiperpigmentadas, foliculares e eritematosas. O agente causador dessa doença é chamado de *Malassezia*, um fungo lipofílico que se instala quando não se tem uma higiene adequada seguido de um sistema imunológico baixo. Observa-se que 3 a 5% da população tem essa infecção. A *Malassezia* possui uma coloração variada de acordo com a infecção, porém na pitiríase versicolor não possui pigmentação por ser um fungo que libera o ácido azelaico tendo atividade antitirozinase, inibindo a síntese de melanina. O tratamento consiste em remédios corticosteroides e antifúngicos, mas a doença pode reaparecer ao indivíduo. Conclui-se que a Pitiríase Versicolor é uma doença intransmissível. O uso de métodos preventivos e dissociar informações para a sociedade em relação a cuidados com os fungos cutâneos, acarreta menor prevalência.

Palavras chaves: pitiríase versicolor, tratamento, epidemiologia.

POLIMORFISMOS GENÉTICOS NO RECEPTOR DE TSH ASSOCIADO AO HIPOTIREOIDISMO CONGÊNITO: UMA REVISÃO

Gildeanes Silva do Carmo¹, Karolayne Silva Souza¹

¹ Faculdade Sete de Setembro - FASETE

O hipotireoidismo congênito (HC) é um dos tipos de distúrbios endócrinos mais comuns, este é ocasionado por defeitos na formação glandular que pode ser causada por fatores genéticos, ambientais e autoimunes. A HC afeta cerca de 1/3000 – 4000 neonatos, e pode ser classificada em permanentes ou transitórios, sendo o permanente responsável pela maioria dos neonatos afetados. O objetivo do presente estudo baseia-se na compreensão da ocorrência de polimorfismos genéticos no receptor de TSH, e de como essa mutação afeta a síntese glandular de hormônios da tireoide. Tratou-se de uma revisão bibliográfica de abordagem qualitativa do tipo exploratória, em que foram realizadas buscas em arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia na revista scielo. Os polimorfismos são variações que decorrem de mutações na sequência de DNA, podendo ocorrer uma inserção ou deleção de um segmento de DNA ao longo do genoma do indivíduo. O gene codificador do rTSH está localizado no cromossomo 14q1, com isso polimorfismos situados nessas regiões resultam em alterações moleculares neste receptor, na qual se atribui uma resistência ao reconhecimento do hormônio TSH. O receptor de TSH (rTSH) é responsável pela intermediação das ações do TSH no crescimento, metabolismo e função celulares, tendo o objetivo final de síntese e secreção hormonais da glândula da tireoide. No entanto, a insensibilidade de resposta ausente ou reduzida do hormônio TSH resulta em uma glândula da tireoide hipoplásica e a secreção e síntese de hormônios tireoidianos reduzidos. Polimorfismos no gene do rTSH é uma das principais mutações que levam ao acometimento do HC, estes polimorfismos podem ser parciais ou totais, podendo apresentar-se uma quantidade de T4 diminuída ou normal, ocasionando em disfunções fisiológicas, como metabolismo reduzido.

Palavras chaves: polimorfismos, hipotireoidismo congênito, rTSH.

PONTOS QUÂNTICOS CATIÔNICOS PARA AVALIAÇÃO DE CARGAS ELÉTRICAS DE MEMBRANAS ERITROCITÁRIAS

Lara Gonçalves de Assis¹, Carinna Nunes de Lima^{1,2}, Tiago Henrique de Souza¹, Beate Saegesser Santos³, Patricia Moura², Isvânia Maria Serafim da Silva Lopes¹, Mariana Brayner Cavalcanti Freire Bezerra⁴, Adriana Fontes¹

¹Depto. de Biofísica e Radiobiologia, UFPE, Recife – PE, Brasil; ²Instituto de Ciências Biológicas, UPE, Recife – PE, Brasil; ³Depto. de Ciências Farmacêuticas, UFPE, Recife – PE, Brasil;

⁴Depto. de Energia Nuclear, UFPE, Recife – PE, Brasil.

As cargas elétricas negativas de membrana são fundamentais para a estabilização dos eritrócitos por influenciarem diretamente no Potencial Zeta (ζ), uma propriedade que atua fisiologicamente evitando que essas células agreguem entre si, e também com células endoteliais. Esta carga de superfície é conferida principalmente pelo ácido siálico presente nas glicoproteínas. Alterações no ζ podem levar à adesão eritrocitária e favorecer a oclusão nos microvasos. Supõe-se que condições como hemoglobinopatias e a irradiação gama, prática usada em hemocentros, favoreçam a perda de ácido siálico e alterem o ζ dos eritrócitos. Assim, nesse trabalho foram utilizados pontos quânticos (PQs) catiônicos para a avaliação de alterações das carga elétricas nessas células, uma vez que interagem eletrostaticamente com resíduos aniônicos membranares, permitindo a determinação dessa propriedade por fluorescência. O objetivo deste estudo foi utilizar PQs de CdTe estabilizados com cisteamina para avaliar a carga elétrica de eritrócitos provenientes de duas hemoglobinopatias (anemia falciforme - HbSS e beta-talassemia intermediária - Hb β) e também de eritrócitos após irradiação gama (4 Gy e 25 Gy). Para isso, essas células foram incubadas com PQs (1,5 μ M) por 5 min. Em seguida, os eritrócitos foram centrifugados e ressuspendidos em NaCl 0,9% e analisados por citometria de fluxo, avaliando-se a porcentagem de marcação e a mediana de fluorescência (MF). Os eritrócitos de indivíduos saudáveis e sem irradiação (HbA) foram usados como controle. Para irradiações até 25 Gy não foram observadas alterações nas cargas elétricas da membrana eritrocitária. Por outro lado, foram observadas diminuições significativas na carga elétrica dos eritrócitos HbSS e Hb β , uma vez que os percentuais de marcação foram, respectivamente, 10 e 20% menores em relação a HbA. Também foram observadas diminuições na MF de até 60% para essas hemoglobinopatias. Conclui-se que os PQs revelaram-se ferramentas versáteis e eficientes para avaliar cargas elétricas da superfície eritrocitária em diferentes condições.

Palavras-chave: pontos quânticos, hemoglobinopatias, hemoterapia, carga elétrica.

POTENCIAL PARA BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO POR ACTINOBACTÉRIAS ORIUNDAS DE SOLO RIZOSFÉRICO DA CAATINGA

¹ Carlos Vinícius Jackes de Oliveira, ¹ Gabriela Cristina de França, ³ Rosilma Oliveira de Araújo-Melo, ¹ Kêsia Xisto da Fonseca Ribeiro de Sena, ² Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho e ¹ Gláucia Manoela de Souza Lima.

¹ Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil

² Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil

³ Centro Universitário Maurício de Nassau – Unidade Caruaru, Caruaru, Pernambuco, Brasil

Glifosato (N(fosfometil)glicina) é um herbicida de amplo espectro que age inibindo a atividade da enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintase, responsável pela síntese dos aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina em vegetais. O uso extensivo do glifosato ao longo dos anos foi o responsável pela ação cumulativa e contaminante nos ambientes terrestres e aquáticos. Algumas bactérias do solo são capazes de degradar o glifosato, entre elas estão as actinobactérias, principalmente o gênero *Streptomyces*. O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de linhagens de actinobactérias isoladas de solo da Caatinga em degradar o glifosato e utilizá-lo como fonte de nitrogênio. As linhagens de actinobactérias foram obtidas da Coleção de culturas do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, sob as numerações J168, J181, J835 e J867 e caracterizadas segundo o *International Streptomyces Project*. Foi realizado um ensaio de indução cultivando-se as actinobactérias em caldo ISP-2 suplementado de 1% de glifosato; posteriormente as cepas que cresceram nesta condição foram submetidas ao teste de degradação do substrato em meio sólido. Três meios basais de sais adicionados de 2% de glifosato foram avaliados. Após inóculo pontual das actinobactérias, as placas foram incubadas a 30 °C por 7 dias; em seguida foi adicionado 5 mL de lugol como revelador. A presença de crescimento da actinobactéria e a zona translúcida ao redor da colônia indicaram resultado positivo para degradação do herbicida. A caracterização morfológica das quatro linhagens analisadas corrobora com o gênero *Streptomyces*, sendo este o gênero de actinobactérias mais comumente isolado de amostras de solo. Apenas J168 foi capaz de crescer nos meios de cultura, conseqüentemente degradando o herbicida. *Streptomyces* é um dos gêneros de actinobactérias de maior versatilidade metabólica e grande relevância biotecnológica. Este estudo demonstrou a utilização promissora de *Streptomyces* sp. J168 como agente biológico para biorremediação de solos contaminados com glifosato.

Palavras-chave: *Streptomyces*, herbicidas, biorremediação.

PRÉ FERMENTAÇÃO LÍQUIDA DE L-ASPARAGINASE PROLONGADA POR ISOLADOS FÚNGICOS ESTOCADOS DA MICOTECA URM – UFPE

Marcela Vanessa Dias da Costa¹, Joenny Maria da Silveira de Lima¹, Giane Rizzuto Araújo Magalhães¹, Cristina Maria Souza-Motta¹

¹ Universidade Federal de Pernambuco- UFPE

As enzimas são proteínas que atuam como catalisadoras de reações químicas. Sendo essenciais para o sistema metabólico de todos os organismos vivos, e essa capacidade catalítica torna-as adequadas para diversas aplicações industriais. Sendo muito utilizadas nas áreas: indústria alimentícia e farmacêutica. A L-asparaginase é uma enzima caracterizada como agente anti-neoplásico que vem sendo utilizada no tratamento da leucemia linfoblástica aguda (LLA). E tem sido aplicada no tratamento da doença de Hodgkin, linfossarcoma e do mielossarcoma. A existência de micro-organismos produtores de L-asparaginase é uma grande vantagem para a obtenção de enzimas que possam ser utilizadas clinicamente. O presente estudo buscou testar a produção de L-asparaginase em pré fermentação líquida prolongada pela espécie de *Aspergillus* sp.(D2), *Umbelopsis* sp. (211) e *Penicillium* sp.(T14), que estão em processos de identificação na micoteca URM da UFPE. A fim de detectar produção primária da enzima e selecionar os fungos foi utilizado o método de screening em meio sólido em seguida foi realizada uma Fermentação Líquida Submersa (FS) com meio CzapekDox's modificado (CDM). Posteriormente foi inoculado de 1ml de esporo fúngico, em dez erlenmeyers que foram incubados por 12 dias a 120 rpm numa temperatura de 30 graus. Para analisar a produção na FS foi separado o micélio fúngico do extrato por filtração com bomba a vácuo. Para realização da atividade foi utilizado o filtrado e tampão tris-HCL e para leitura em espectrofotômetro a 550nm. Os resultados obtidos na FS provaram a eficiência na produção de L-asparaginase pelos isolados fúngicos, que apresentaram atividades 1,2 U/mL, 1,5 U/ml e 1,0 U/ml para *Umbelopsis* sp., *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., respectivamente, indicando serem espécies produtoras da enzima. Podendo ser indicados para estudos de otimização da produção e purificação da L-asparaginase, e futuras aplicações em escala industrial farmacêutica.

Palavras-chaves: produção enzimática, microrganismos, fermentação líquida.

PREPARAÇÃO DO EXTRATO DE *Hibiscus sabdariffa* PARA USO NA REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN EQUINO

Mariana De Sousa Santos Hempel¹; André Luiz Pereira Tork¹, Lucas Brendo Pimenta Bandeira¹, Mateus da Silva Matias Antunes¹, Kristerson Reinaldo de Luna Freire¹, Sildivane Valcácia Silva¹

¹Centro de Biotecnologia, Campus I, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB

O sêmen equino apresenta resultados inferiores quando comparado a outras espécies animais quanto ao uso de sêmen refrigerado na inseminação artificial (IA). Esta redução compromete o crescimento da cadeia produtiva do cavalo, que participa ativamente do agronegócio brasileiro. Sabe-se que esta redução na fertilidade condiciona-se à baixa resistência do espermatozóide equino à variações de temperatura e a sua susceptibilidade ao estresse oxidativo. Por apresentar característica antioxidante, o *Hibiscus sabdariffa* apresenta-se como uma alternativa vegetal para o processo de criopreservação. Mediante o exposto, objetivou-se testar técnicas de extração do hibisco para estudo em células espermáticas de equinos. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/UFPB (Protocolo nº 124/2016). No preparo do extrato de hibisco para adição no diluidor de sêmen equino para refrigeração, foram adicionados 22g de flor seca de *H. sabdariffa* em 300 mL de metanol durante três dias e no escuro, para ocorrer a extração. O extrato foi filtrado e mantido sob refrigeração (5°C). Em sequência, o extrato foi rotaevaporado, pesado e mantido no vácuo para secagem e melhor extração dos pigmentos de interesse. O extrato foi diluído na concentração de 5,0 mg/mL de água destilada e testado em células espermáticas de equinos (n=5), colhidas por vaginal artificial e mantidas sob refrigeração (5 °C). Foi verificado que o extrato, na concentração de 5 mg/mL foi deletério às células espermáticas, diminuindo consideravelmente a motilidade durante a refrigeração. Foi percebido que a extração em metanol foi mais eficiente na extração dos compostos, em comparação à extração em etanol (estudo realizado anteriormente), o que aumentou a atividade do extrato, sendo tóxica à célula espermática de equinos, na concentração testada. Estudos correntes avaliam a concentração de 2,5 mg/mL. Desta forma, é possível extrair compostos do hibisco e permite estudos com a criopreservação do sêmen equino.

Palavras-chave: criopreservação, espermatozoide, hibisco, motilidade.

PRODUÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS EM FRUTOS DE PAU-FERRO MICORRIZADO E ESTABELECIDO EM CAMPO

Brena Coutinho Muniz^{1,3}; Emanuela Lima dos Santos^{2,3}; Francineyde Alves da Silva⁴;
Fábio Sérgio Barbosa da Silva^{1,2,3}

¹ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada, Universidade de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

³ Laboratório de Análises, Pesquisa e Estudos em Micorrizas, Universidade de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

⁴ Laboratório de Tecnologia Micorrízica, Universidade de Pernambuco, Petrolina, Brasil

Libidibia ferrea ou pau-ferro, leguminosa da Caatinga, é utilizado pela população no tratamento de doenças como diabetes e inflamações. Produz compostos bioativos como os flavonoides, que conferem propriedades terapêuticas à espécie. Essas biomoléculas podem ter os teores otimizados quando as plantas estão associadas a fungos micorrízicos arbusculares (FMA). O objetivo do estudo foi quantificar a produção de flavonoides em frutos de *L. ferrea* inoculada ou não com FMA e estabelecida em campo. Para isso, utilizou-se os seguintes tratamentos: plantas pré-inoculadas com *Acaulospora longula*, com *Claroideoglossum etunicatum*, com *Gigaspora albida* e controle sem inoculação. Após 32 meses em campo experimental, 2 g dos frutos foram macerados em 20 mL de metanol 80% por 10 dias para doseamento dos flavonoides totais, utilizando o método de complexação com cloreto de alumínio e leitura espectrofotométrica. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5 %). A concentração de flavonoides totais nos frutos de *L. ferrea* inoculada com *A. longula* e com *C. etunicatum* não diferiu do controle. Por outro lado, plantas inoculadas com *G. albida* apresentaram redução em relação ao controle não inoculado. Possivelmente, as moléculas precursoras na formação de flavonoides podem estar sendo direcionadas para rota de outros metabólitos, tornando-se importante quantificar outras moléculas nos frutos. Conclui-se que a micorrização não é alternativa para aumentar a produção de flavonoides totais em frutos de *L. ferrea* com 32 meses em campo.

Palavras-chave: *Libidibia ferrea*, bioativos, FMA, simbiose mutualística.

SURVIVINA COMO POTENCIAL BIOMARCADOR PARA O CÂNCER

¹Mikael Nikson Vilela Tenório da Paz, ²Fabiola de Almeida Brito

¹Discente de Biomedicina do Centro Universitário Cesmac; ²Docente do Centro Universitário Cesmac

A survivina é a menor proteína da família de Inibidoras de Apoptose (IAP's), está relacionada com a regulação do ciclo celular e resistência tumoral. A proteína é expressa em células no período embrionário e em células cancerígenas, mas não em células adultas saudáveis. Ela inibe a apoptose mediada por caspases na via intrínseca ou extrínseca e participa da regulação do ciclo celular. Torna-se relevante o estudo sobre a survivina, pois a interrupção da apoptose é um importante mecanismo de evasão celular das células tumorais, pois além de permitir a contínua proliferação de células defeituosas, atua alterando a sensibilidade dessas células a drogas quimioterápicas, possibilitando a sobrevivência das células cancerígenas. Avaliar a detecção da survivina em células neoplásicas. Investigar a influência da survivina na resistência tumoral. Identificar as isoformas da molécula e seus respectivos sítios de ação e ativação. Foram utilizados periódicos dos últimos 10 anos, escritos em português e inglês, buscados nas bases de dados científicas Pubmed, Scielo e Periódicos Capes. Como descritores foram usados os termos: survivina, câncer, apoptose, resistência tumoral. Os polimorfismos no gene de survivina estão emergindo como ferramentas poderosas para estudar a biologia da doença e têm potencial para serem usados no prognóstico e no diagnóstico da doença. Os polimorfismos do gene influenciam a agressividade tumoral, bem como a sobrevivência de pacientes com câncer. Foi observado que a survivina possui mecanismos combinados com outras IAP's que promovem a angiogênese e metástase, sugerindo uma associação entre a survivina e a metástase. Survivina é caracterizada como uma poderosa proteína de inibição da apoptose, tendo papéis fundamentais na sobrevivência de células cancerígenas sobre vários estresses. Conclui-se que a survivina promove reparo em vários pontos específicos das células mutantes causados por dano no DNA induzido por radiação.

Palavras-Chaves: Survivina, apoptose, câncer.

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA CHALCONA: UM INTERMEDIÁRIO SINTÉTICO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Brendo Vinícius Santos Macêdo¹; Isabella Elias Arruda¹; Joseane da Conceição Macedo¹; Ana Paula de Oliveira¹; Cleônia Roberta Melo Araújo¹; Arlan de Assis Gonsalves¹

¹ Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, Brasil.

A Organização Mundial da Saúde solicita a comunidade científica o desenvolvimento de novos antibióticos contra cepas bacterianas resistentes. As chalconas são cetonas α,β -insaturadas que exibem uma ampla gama de atividades biológicas, dentre as quais antibacteriana. Partindo-se da possibilidade de se utilizar chalconas como intermediários sintéticos para a obtenção de compostos bioativos, o presente trabalho visa produzir inicialmente uma chalcona para, em seguida, obter a *N*-acilhidrazona correspondente após a reação deste intermediário com a isoniazida, um fármaco com ação antibiótica. Sintetizar e caracterizar uma chalcona intermediária visando estudos posteriores de atividade antibacteriana contra cepas de interesse clínico. Realizou-se a síntese da chalcona usando a reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt. Neste procedimento, 1 mmol de acetofenona e 1 mmol de anisaldeído foram postos para reagir em meio básico de KOH (5,0 mol/L) e usando etanol a 70% como solvente por 24 h à temperatura ambiente. O sólido obtido foi purificado por recristalização em etanol e caracterizado. A chalcona mostrou-se como um sólido amarelo, com faixa de fusão entre 114 e 117°C. O rendimento da reação foi cerca de 60%. Os dados de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) foram: 3,86 (s, 3H, OCH₃), 6,94 (d, 2H, Ar-H), 7,43 (d, 1 H, HC=CH), 7,48-7,53 (m, 2H, Ar-H), 7,56-7,63 (m, 3H, Ar-H), 7,80 (d, 1H, HC=CH) e 8,01 (m, 2H, Ar-H). Já os dados de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm) foram: 55,48 (OCH₃), 114,37 (Ar), 119,68 (C=C), 127,54 (Ar), 128,39 (Ar), 128,55 (Ar), 130,23 (Ar), 132,57 (Ar), 138,43 (Ar), 144,72 (C=C), 161,70 (Ar) e 190,60 (C=O). Diante dos resultados obtidos, a síntese da chalcona almejada foi realizada com sucesso, o que favorece a realização da etapa sintética posterior, que é a obtenção da *N*-acilhidrazona correspondente após a reação deste intermediário com a isoniazida.

Palavras-chave: cetona α,β -insaturada; isoniazida; antibiótico; *N*-acilhidrazona.

