

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

ANAIS DO SIMPÓSIO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL

Volume 2

Recife
2017

Simpósio de Morfologia e Fisiologia Animal

Periodicidade do Evento: Anual

IV SIMFA

Comissão Organizadora:

Janaina de Albuquerque Couto (Coordenadora)

Cristiane Maria Varela de Araújo Castro (Vice-Coordenadora)

Yuri Mateus Lima de Albuquerque (Presidente da Comissão Organizadora)

Priscila Maria dos Santos Oliveira (Vice-Presidente da Comissão Organizadora)

Marcela Gabriela Feitosa Vieira

Apoio:



Sumário

Apresentação	3
Resumos	4
ALTERAÇÕES ANATÔMICAS ENCONTRADAS EM CÃES E GATOS COM HEMIMELIA RADIAL...	4
ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS EM CÃES PORTADORES DE HIPERADRENOCORTICISMO – REVISÃO DE LITERATURA.....	10
ANÁLISE DA VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA DO CEFALOTÓRAX ENTRE MACHOS E FÊMEAS DO CAMARÃO LITOPENAEUS VANNAMEI (BOONE, 1931)	17
ANATO-BINGO COMO JOGO DIDÁTICO EM ANATOMIA TOPOGRÁFICA NO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA.....	23
ASPECTOS CLÍNICOS E ALGUMAS CONCEPÇÕES POPULARES SOBRE ERISPELA EM DIFERENTES REGIÕES DE PERNAMBUCO.....	29
ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA AÇÃO CARCINOGENICA DE PTERIDIUM AQUILINUM EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO: REVISÃO DE LITERATURA.....	37
ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA SINDROME DE CUSHING EM CÃES (REVISÃO DE LITERATURA).....	41
ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DECORRENTES DA INTOXICAÇÃO POR BRACHIARIA RADICANS EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO: REVISÃO DE LITERATURA.....	47
ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DECORRENTES DA INTOXICAÇÃO POR CROTALARIA RETUSA EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO	51
ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DECORRENTES DA INTOXICAÇÃO POR PROSOPIS JULIFLORA EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO	56
ASPECTOS HISTOLÓGICOS DAS ALTERAÇÕES RENAIS DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR LEISHMANIA INFANTUM	60
ASPECTOS HISTOLÓGICOS DO PÊNFIGO FOLIÁCEO EM CÃES	66
AUSÊNCIA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS ANTI-BRUCELLA SPP. EM ASININOS (EQUUS ASSINUS) DO NORDESTE BRASILEIRO	72
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL DE RATOS EXPOSTOS A RADIAÇÃO IONIZANTE.....	77
AVALIAÇÃO DE MODELOS DIDÁTICOS ÓSSEOS DE RESINA QUANTO À SUA QUALIDADE E APLICABILIDADE PARA O ENSINO DE ANATOMIA HUMANA.....	84
AVALIAÇÃO DO EXTRATO DE FOLHAS DE AROEIRA-VERMELHA (<i>SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS</i>) QUANTO À PRESENÇA DE LECTINAS E SEU EFEITO NA SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE TRAÇA-DAS-BRÁSSICAS (<i>PLUTELLA XYLOSTELLA</i>)	91
BISFENOL-A E SUA RELAÇÃO COM POSSÍVEIS DANOS A SAÚDE HUMANA	97
COMPORTAMENTO DO CRESCIMENTODA PALOMBETA (<i>CHLOROSCOMBRUSCHRYSURUS</i>) CAPTURADA NA PESCA DE CURRAIS DO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO	102
DESCRIÇÃO DA VASCULARIZAÇÃO ARTERIAL DO MESENTÉRIO NA PREGUIÇA <i>BRADYPUS VARIEGATUS</i>	108
DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DE AMELOBLASTOMA ACANTOMATOSO EM CANINO..	112
DIAGNÓSTICO HISTOPATOLOGICO E IMUNOHISTOQUÍMICO DO CARCINOMA TRANSICIONAL	116
ESPOROTRICOSE FELINA: RELATO DE CASO	120
ESTUDO ANATÔMICO E MORFOMÉTRICO DE OSSO LONGO PARA A IDENTIFICAÇÃO DE GÊNERO HUMANO	127
ESTUDO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS PLANTAS DE MANGUE: ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA E IMUNOMODULATÓRIA	134

ESTUDO DO COEFICIENTE ALOMÉTRICO DA RELAÇÃO COMPRIMENTO-PESO DO PEIXE-GALO (SELENEBROWNII) CAPTURADO NA PESCA DE CURRAIS DO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO	141
EXTRATO DE FLORES DE MORINGA OLEIFERA (MORINGACEAE) CAUSA MORTALIDADE DE LARVAS E MALFORMAÇÕES EM ADULTOS DE PLUTELLA XYLOSTELLA (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)	146
EXTRATO DE FOLHAS DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS REDUZ A ECLODIBILIDADE DOS OVOS DA TRAÇA-DAS-BRÁSSICAS (<i>Plutella xylostella</i>)	153
EXTRATO DE OPUNTIA FÍCUS-INDICA INTERFERE NA SOBREVIVÊNCIA E NA PERMEABILIDADE DA MATRIZ PERITRÓFICA DE LARVAS Aedes Aegypti	158
HIPERPARATIREOIDISMO SECUNDÁRIO RENAL CANINO – REVISÃO DE LITERATURA	163
IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO DO FLUIDO RUMINAL NA DETECÇÃO DE ALTERAÇÕES DO TRATO DIGESTÓRIO DOS RUMINANTES DOMÉSTICOS	169
IDENTIFICAÇÃO DE ADAPTAÇÕES OSTEOHISTOLÓGICAS APENDICULARES EM ANAS PLATYRHYNCHOS (ANSERIFORMES) E SUAS IMPLICAÇÕES BIOMECÂNICAS	174
MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA OSTEOSARCOMA CANINO	179
O USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NA MODULAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA (REVISÃO DE LITERATURA)	185
PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM CÂNCER RETINOBLASTOMA	191
PARTICULARIDADES ANATÔMICAS DOS RINS DO BICO-PREGUIÇA (<i>BRADYPUS VARIEGATUS</i>)	197
PCR-RFLP COMO FERRAMENTA NA IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS DE <i>ASPERGILLUS NIGER</i> , ISOLADAS DE AMOSTRAS DE SOLO	201
PCR-RFLP NO DIAGNÓSTICO DE <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	208
PEIXES COMO MODELO EXPERIMENTAL, QUESTÕES ÉTICAS E DE BEM-ESTAR	216
PESQUISA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO <i>STAPHYLOCOCCUS</i> SPP. EM QUEIJO ARTESANAL ELABORADO COM LEITE CAPRINO COMERCIALIZADO NO ESTADO DE PERNAMBUCO	221
POTENCIAL BIOLÓGICO DOS EXTRATOS OBTIDOS DE <i>CAESALPINIA PULCHERRIMA</i> : DO USO ETNOFARMACOLÓGICO À EXPERIMENTAÇÃO CIENTÍFICA	226
PROPOSTA DE MODELO DIDÁTICO PARA AULA PRÁTICA DE FISIOLOGIA DO SISTEMA ENDÓCRINO ANIMAL	233
PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DA <i>MALPIGHIA EMARGINATA</i> : CARACTERIZAÇÃO INICIAL DO EXTRATO SALINO	238
PSEUDOCIESE EM CADELAS	245
QUITOSANA: UM BIOPOLÍMERO COM FUNÇÕES BIOMÉDICAS	250
RELAÇÃO COMPRIMENTO-PESO DA GUARAJUBA (<i>CARANGOIDES BARTHOLOMAEI</i>) CAPTURADA NA PESCA DE CURRAIS NO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO	254
RELAÇÃO COMPRIMENTO-PESO E FATOR DE CONDIÇÃO DO CORÓ (<i>POMADASYS CORVINAEFORMIS</i>) CAPTURADO NA PESCA DE CURRAL DO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO	260
RESÍDUO DE ANTIBIÓTICO NO LEITE E FORMAS DE IDENTIFICAÇÃO	267
RESÍDUOS ANTIPARASITÁRIOS NO LEITE E SEUS IMPACTOS	272
SORODIAGNÓSTICO DE ANTICORPOS IGG ANTI- <i>TOXOPLASMA GONDII</i> EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFRPE	277
TAMANHO DE PRIMEIRA MATURAÇÃO E PERÍODO REPRODUTIVO DO PEIXE-REI <i>ATHERINELLA BRASILIENSIS</i> (QUOY & GARMARD, 1824) (ATHERINIFORMES, ATHERINOPSIDAE) CAPTURADOS NA PRAIA DE PONTA DE PEDRAS, LITORAL NORTE DO ESTADO DE PERNAMBUCO	283

UTILIZAÇÃO DA GONADOTROFINA CORIÔNICA EQUINA NA REPRODUÇÃO DE VACAS E ÉGUAS.....	290
OTIMIZAÇÃO DO PROTOCOLO PCR-RFLP PARA DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO TAQ1 NO GENE DRD2	295
ANÁLISE QUANTITATIVA DE CÉLULAS DE PURKINJE DE RATAS PRENHES EXPOSTAS A DOSAGENS SUBLETAIS DO HERBICIDA GLIFOSATO (ROUNDUP®) E TRATADAS COM MELATONINA	301

Alterações anatômicas encontradas em cães e gatos com hemimelia radial

Sabrina Cândido Trajano¹; Grazielle Anahy de Sousa Aleixo Cavalcanti¹; Breno Bezerra Aragão¹; José Alexandre Melo dos Santos¹; Thaynar Rakell Carlos Cavalcante Santos²; Maria Duarte Kobayashi².

¹Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE, Recife, PE, Brasil.

²Departamento de Medicina Veterinária/UFPB, Areia, PB

E-mail do primeiro autor: sabrina-vetbio@hotmail.com

Resumo

A hemimelia é uma anomalia apendicular rara caracterizada pela ausência total ou parcial de um ou mais ossos, sendo a radial mais frequente em cães e gatos. A anomalia se enquadra como uma disostose, que é um grupo de alterações morfológicas ósseas, caracterizadas pelo desenvolvimento anormal do osso. A hemimelia é classificada como terminal ou intercalar, esta ainda podem ser transversa ou longitudinal. A ausência parcial ou total do rádio provoca deformidade angular do membro afetado, acarretando limitações funcionais. Para o diagnóstico, o exame radiográfico é o mais indicado, pois detecta a ausência total ou parcial do osso e os desvios angulares existentes, além de avaliar as articulações proximais e distais, podendo em alguns casos ser necessário a avaliação com tomografia computadorizada para planejamento cirúrgico. O tratamento da hemimelia pode ser conservativo ou cirúrgico, dependendo do grau de comprometimento.

Palavras-chave: agenesia, deformidade angular, malformação congênita, pequenos animais.

1 Introdução

A hemimelia também conhecida de agenesia é uma alteração congênita na qual um ou mais ossos estão total ou parcialmente ausentes podendo se apresentar de forma uni ou bilateral (FERREIRA et al., 2012; IAMAGUTI et al., 2012; PERES et al., 2013). Embora seja um defeito congênito raro, a agenesia de rádio unilateral é a mais frequente dentre as anomalias que afetam os cães e os gatos. Essa anomalia genética se enquadra como uma disostose, que é um grupo de alterações morfológicas ósseas, caracterizadas pelo desenvolvimento anormal de um osso ou parte dele (TOBIAS e JOHNSTON, 2012; MAKINO, et al., 2017).

Disostoses podem ser encontradas tanto no esqueleto apendicular, como no axial. No apendicular aparece como amelia, hemimelia, ectrodactilia, braquidactilia, polidactilia, sindactilia, adactilia e dimelia (FERREIRA et al., 2012). No esqueleto axial

incluem hemivertebral, vértebra em bloco, vértebras transicionais, espinha bífida, subluxação atlantoaxial e meningomielocle (KEALY e MCALLISTER, 2005).

Conforme o membro se desenvolve sem o rádio, a ação de tendões flexores e extensores deforma a ulna, resultando em deformidades angulares e articulares, causando limitações funcionais do membro acometido. Devido à deformidade do antebraço, este fica com uma aparência de nadadeira, podendo deixar o membro torácico afetado afuncional (FERREIRA et al., 2012; MAKINO et al., 2017).

2 Classificação

Todos os ossos apendiculares podem ser afetados e muitas variações da hemimelia tem sido reconhecidas, como a intercalar ou terminal e transversa ou longitudinal. A forma terminal é quando os ossos intermediário e distal estão parcial ou totalmente ausentes e a forma intercalar consiste na ausência total ou parcial de um osso intermediário (BRITO, 2003; TOWLW e BREUR, 2004; FERREIRA et al., 2012). Tanto a hemimelia terminal como a intercalar podem ser classificadas como transversa, quando existe a ausência completa de um ou mais ossos na porção transversal do membro (fig. 1), ou longitudinal quando há ausência de um ou mais ossos lateral ou medial do membro. (TOWLW e BREUR, 2004; FERREIRA et al., 2012; TOBIAS e JOHNSTON, 2012).

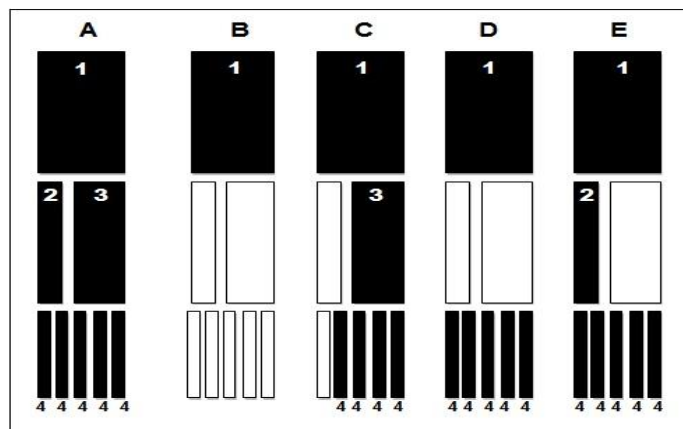


Figura 1: Representação esquemática do membro torácico de gato ilustrando a classificação de hemimelia (imagem sem preenchimento representa ausência do osso). (1) úmero, (2) ulna, (3) rádio e (4) metacarpianos. (A) desenvolvimento normal dos ossos do membro torácico; (B) hemimelia terminal transversa; (C) hemimelia terminal longitudinal; (D) hemimelia intercalar transversa; (E) hemimelia intercalar longitudinal (FERREIRA et al., 2012).

3 Etiologia

A etiologia ainda não está completamente esclarecida, sendo relacionada a fatores genéticos, ambientais ou a combinação de ambos. As alterações dos membros

estão associadas com herança autossômica dominante, no entanto, herança autossômica recessiva e aberrações cromossômicas podem estar envolvidas. Dentre as causas relatadas, estão as manifestações teratogênicas provocadas por medicamentos, radiação, vacinas, bem como a fatores maternos e ambientais como compressão gestacional intrauterina, deficiência nutricional materna, traumas sofridos durante a gestação, deficiência vascular embrionária, processos inflamatórios, insulinoaterapia (ALAM et al., 2006; PIMENTEL et al., 2007; CARNEVALL et al., 2010; FERREIRA et al., 2012).

A formação embrionária dos membros em cães e gatos ocorre a partir do 23º dia de gestação até o 35º dia (CARNEVALL et al., 2010). Malformações congênicas dos membros torácicos ocorrem com mais frequência devido ao desenvolvimento mais precoce desses com relação aos membros pélvico.

4 Sinais clínicos

Os sinais clínicos podem aparecer nas primeiras semanas de vida, dependendo do tipo de hemimelia. Na agenesia radial são observados sinais de deformidade angular, claudicação, diminuição da amplitude de movimento das articulações adjacentes, atrofia muscular, encurtamento dos membros, alterações posturais e de deambulação. Geralmente os animais acometidos não apresentam sensibilidade dolorosa (PIMENTEL et al., 2007; CARNEVALI; RAUSCH; MEIRELES, 2011; FARIA et al., 2013).

Com o tempo, os músculos flexores podem tornar-se contráteis de forma permanente, gerando dor à palpação distal da ulna, falta de flexão ou extensão dos membros torácicos, deformidade óssea, atrofia muscular e contração muscular ao longo de todo o comprimento do membro anterior. Devido à carga adicional, a ulna pode assumir um diâmetro maior do que o normal, e também desvio medial dos metacarpos com apoio dos membros com a região do carpo. Fraturas concomitantes podem também estar presentes (TOBIAS e JOHNSTON, 2012).

5 Diagnóstico

A confirmação do diagnóstico é obtida através do exame radiográfico, no qual se visualiza a ausência completa ou parcial do rádio, aumento do comprimento da ulna e seu encurvamento, instabilidade e incongruência das articulações úmeroulnar e carpoulnar que podem ocorrer devido às alterações anatômicas da ulna (fig.2). Ainda outros ossos da mesma extremidade podem estar deformados ou ausentes, como o carpo radial ulnar e as falanges do primeiro dígito (PIMENTEL et al., 2007; DENNIS et al., 2010; IAMAGUTI et al., 2012; CAMPOS et al., 2014).



Figura 2: Hemimelia intercalar radial. C - Observe ausência de radio e espessamento da ulna, canino de 11 semanas de vida; B – ausência de radio e deformidade secundária da ulna (curvatura anormal), canino 8 meses de idade. Fonte: TOWLW e BREUR, 2004.

Geralmente o membro afetado é comparado ao membro contralateral, quando este não está afetado (FERREIRA et al., 2012). As alterações mais comuns relatadas por Owens e Bierry (1998) no exame radiográfico são: ulna espessa, curva e/ou curta, podendo ou não haver luxação úmeroulnar e carpoulnar associado ao desvio medial do metacarpo.

A tomografia computadorizada pode ser útil para o planejamento cirúrgico, uma vez que apresenta melhor detalhamento das estruturas envolvidas, proporcionando ao cirurgião capacidade de visibilizar as estruturas em três dimensões, pois muitas vezes é fazer a análise qualitativa e quantitativa das alterações (DENNIS et al., 2010).

6 Tratamento

Como formas de tratamento para hemimelia radial, pode-se fazer o tratamento conservativo através da imobilização do membro com bandagem de Robert-Jones em posição de apoio ou tratamento cirúrgico (ALAM et al., 2006). Essa enfermidade por si só não é dolorosa, sendo assim os pacientes tratados de forma conservativa normalmente não requerem o uso de analgésicos em longo prazo (IAMAGUTI et al., 2012; PAULA e FILGUEIRA, 2012).

O tratamento precoce da hemimelia radial pode prevenir a contratura muscular e a deformidade óssea evitando o desuso do membro. Se o paciente tem menos de cinco meses, recomenda-se a estabilização do membro em uma posição reduzida com bandagem. Se a função do membro torna-se inaceitável por causa da severidade da deformidade, ou se o animal tem mais cinco meses, a continuação do tratamento conservador ou cirúrgico deve ser considerado (TOBIAS e JOHNSTON, 2012; CAPELLA, et al., 2017).

O tratamento cirúrgico pode consistir em osteogênese por distração por meio do método de Ilizarov, reconstrução do membro, onicetomia nos casos em que o dígito dificulta o apoio e artrodese ulnocarpal associada ou não à artrodese úmeroulnar associada a enxerto ósseo autógeno (ALAM et al., 2006).

Algumas correções cirúrgicas resultam na melhoria da função do membro e na melhor qualidade de vida do animal (NUNES; FILGUEIRA; FILGUEIRA, 2008). O enxerto ósseo autógeno e a artrodese são procedimentos considerados como alternativa para a amputação do membro (ALAM et al., 2006), contudo, a cirurgia não é recomendada quando o paciente encontra-se bem adaptado à patologia esquelética (MANLEY e ROMICH, 1993). O prognóstico para retorno à função do membro, sem cirurgia, é ruim em casos bilaterais (IAMAGUTI et al., 2012; PAULA e FILGUEIRA, 2012).

7 Considerações

A etiologia da hemimelia é ainda desconhecida e a maioria dos casos relatados são de casos individuais. Mais estudos devem ser realizados a fim de esclarecer a etiologia da deformidade e aperfeiçoar técnicas para um tratamento ideal ou até mesmo a prevenção da doença. É imprescindível um diagnóstico precoce das disostoses para preservação do membro e maior possibilidades de tratamento e redução de complicações secundárias. O tratamento muitas vezes é compatível com uma boa qualidade de vida.

8 Referências

- ALAM, M. R., et al. Preaxial longitudinal intercalary radial hemimelia in a dog: a case report. **Veterinaria Medicina**, v. 51, p. 118-123, 2006.
- BRITO, C. M. M. Causas mais comuns de amputação nos membros superiores e inferiores. In: DMR – Divisão de Medicina de Reabilitação do Hospital da Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo (Org.). SP: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2003. p. 4.
- CAMPOS, G.F., et al. Hemimelia radial bilateral em um gato – relato de caso. In: IV SIMPÓSIO INTERNATIONAL DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEM VETERINÁRIO, 2014, Belo Horizonte, MG, 2014.
- CAPELLA, G.A., et al. Agenesia em felinos domésticos: estudo retrospectivo de diagnóstico no HCV-UFPEL. **Veterinária e Zootecnia**, v.24, n 1, p. 107-113, 2017.
- CARNEVALI, T. R.; RAUSCH, S. F.; MEIRELES, M. C. A. Relato de quatro casos de hemimelia em felinos. In: CONGRESSO MEDVEP DE ESPECIALIDADES VETERINÁRIAS, 2011, Curitiba: Medvep, 2011.
- DENNIS, R. et al. **Handbook of small animal radiology and ultrasound**. 2. ed. Londres: Elsevier Science, 2010, 382 p.
- FARIA, J. A., et al. Agenesia Bilateral de ulna em felino: Relato de caso. **Rev. Edu. Cont. Med. Vet. e Zoo.**, São Paulo, v.11, n.3, p. 93, 2013.
- FERREIRA, M. P., et al. Agenesia Bilateral de Rádio em Felino (*Felis catus domesticus*) – relato de caso. **Revista Clínica Veterinária**, n. 97, p. 36-40, 2012.
- IAMAGUTI, L. S., et al. Hemimelia bilateral em cães e gatos – Relato de três casos. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v. 5, n. 10, p. 43, 2012.

- KEALY, J. K.; MCALLISTER, H. **Radiologia e ultra-sonografia do cão e do gato**. 3.ed. Barueri, SP: Manole, 2005.
- MAKINO, H., et al. Hemimelia parcial unilateral de rádio em felino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.44, n. 1, p.135, 2017.
- MANLEY, P. A.; ROMICH, J. A.; Miscellaneous orthopedic diseases. In: SLATTER, D.H. **Textbook of small animal surgery**. 2.ed. Philadelphia: **WB Saunders**, p. 1984 - 1996, 1993.
- NUNES, G. D. L. N.; FILGUEIRA, F. G. F.; FILGUEIRA, K. D. Hemimelia bilateral de rádio em felino doméstico – relato de um caso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA, XXIX, 2008, Maceió: Anclivepa-AL, 2008.
- OWENS, J. M.; BIERY, D. N. **Radiographic Interpretation for the Small Animal Clinician**. 2. ed. Baltimore, Williams, p. 298, 1998, 308 p.
- PAULA, V.V.; FILGUEIRA, K.D. Hemimelia Radial em um exemplar da espécie felina. **Archives of Veterinary Science**, v. 17, p. 261-263, 2012.
- PERES, T. P. S., et al. Hemimelia Bilateral em Canino – Relato de Caso. **Ciências Agrárias**, v. 34, n. 5, p. 2381-2386, 2013.
- PIMENTEL, A. S. et al. Agenesia bilateral de rádio em gato (Felis cati) - Relato de caso. **Revista Universidade Rural - Série Ciências da Vida**, v. 27, p. 209-210, 2007.
- TOBIAS, K. M.; JOHNSTON, S. A. **Veterinary Surgery: Small Animal**. 2 ed. Elsevier Saunders, v. 2, 2012, 2332 p.
- TOWLE, H. A.; BREUR, G. J. Dysostoses of the canine and feline appendicular skeleton. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 225, n. 11, p. 1685 -1692, 2004.

ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS EM CÃES PORTADORES DE HIPERADRENOCORTICISMO – REVISÃO DE LITERATURA

**Jessica Lais de Oliveira Lima¹; Júlio César dos Santos Nascimento¹;
Thais Cláudia dos Santos Lima¹; Thyago Gonzaga Batista de Lira¹;
Vinicius Vasconcelos Gomes de Oliveira^{1,2}; Elayne Cristine da Silva¹**
¹UNINASSAU

²Centro Acadêmico de Vitória – CAV/ UFPE
e-mail : jessicalimavet@gmail.com

Resumo

O Hiperadrenocorticism (HAC) refere-se a um conjunto de alterações clínicas e químicas, que resultam na exposição crônica a concentrações elevadas de glicocorticóides. Etiologicamente, o HAC pode ser classificado em hipófise-dependente, adrenal-dependente e iatrogênico. Os animais acometidos podem apresentar manifestações metabólicas, reprodutivas, cardiovasculares, neuromusculares, oftálmicas e dermatológicas, como por exemplo: alopecia, comedos, calcinose, teleangiectasia, piodermites entre outras. O diagnóstico desta afecção é realizado através do conjunto de sinais clínicos, exames laboratoriais, exames de imagem e dosagem hormonal. O tratamento varia de acordo com a causa. O prognóstico em cães tratados é bom, tendo sobrevida média de trinta a trinta e seis meses, variando com a idade, estado geral e compromisso do tutor com o tratamento. Desta forma, objetiva-se com esta revisão, alertar aos profissionais e estudantes de Medicina Veterinária sobre as principais alterações dermatológicas decorrentes da síndrome de Cushing em cães, que pode por muitas vezes, estar sendo subdiagnosticada ao se confundir com outras dermatopatias.

Palavras chave: endocrinologia, síndrome de cushing, caninos, lesões de tegumento

1 Introdução

O Hiperadrenocorticism (HAC) ou síndrome de Cushing é uma síndrome causada pelo excesso de secreção de cortisol, podendo ser consequência de tumores hipofisários, alterações das adrenais ou até mesmo ter origem iatrogênica (MULLER & KIRK, 1996). Esta enfermidade é considerada uma das principais endocrinopatias que acometem cães de meia-idade e idosos não possuindo predisposição sexual (OLIVEIRA, 2004). Por outro lado, Carlotti e Pin (2004) relatam uma pré-disposição racial para animais que desenvolvem HAC espontâneo, que tende a ocorrer no Poodle, Boxer, Teckel e no Labrador. Dentre as principais alterações clínicas destacam-se as alterações tegumentares em cães com HAC hipófise-dependente e adrenal-dependente. Vale ressaltar que além dos sinais clínicos pielonefrite, cálculos urinários e

tromboembolismo pulmonar (NELSON & COUTO, 2001).clássicos, podem ocorrer diversas complicações associadas como diabetes mellitus, pancreatite,

2 Hiperadrenocorticismo

2.1 Anatomofisiologia e Etiopatogenia

As glândulas adrenais estão localizadas no tecido retroperitoneal ao longo dos pólos craniais dos rins. Anatomicamente, esta glândula é dividida nas porções cortical e medular. Histologicamente, a porção cortical é dividida em três zonas celulares diferentes que controlam a produção de hormônios esteroidais derivados do colesterol (KEMPPAINEN; BEIHREND,1997). Assim, na zona glomerular ocorre produção de mineralocorticóides, que tem como principal representante a aldosterona. Por sua vez, na zona fasciculada ocorre a produção dos glicocorticóides, destacando-se o cortisol; na zona reticular é produzida a diidroepiandrosterona, que pode ser metabolizado para outros hormônios sexuais como a testosterona e o estradiol. Na porção medular são produzidas as catecolaminas, sendo destacadas a adrenalina e noradrenalina (BANKS,1991).Os níveis de cortisol plasmático elevados causam os sinais clínicos, mas a alteração primária pode ser de origem hipofisária, conhecida como hipófise-dependente; também pode ser decorrente de neoplasias adrenocorticais, conhecidas como adrenal - dependente ou até mesmo pode ser causado de forma iatrogênica pela administração de glicocorticóides (NELSON; COUTO,2001).No HAC hipófise-dependente, responsável por aproximadamente 85% dos casos, um tumor pituitário estimulando aumento da secreção de ACTH, que por sua vez estimula o aumento da secreção de cortisol pelas glândulas adrenais.Nos casos de tumores adrenais, que correspondem de 15 a 20% dos casos(PETERSON, 1998), ocorre a secreção do cortisol independentemente do controle hipofisário. Já no hiperadrenocorticismo que ocorre de forma iatrogênica é realizada a administração exógena de glicocorticóides de forma exacerbada, para a realização de tratamento de doenças imunomediadas ou até mesmo de distúrbios alérgicos que provocam a atrofia das duas glândulas adrenais (HESS,2010).

2.2 Sinais Clínicos

A exposição crônica ao excesso de cortisol, frequentemente resulta no desenvolvimento da combinação clássica de lesões e sinais clínicos, incluindo: poliúria, polidipsia, polifagia, aumento de volume abdominal e obesidade, hepatomegalia, alopecia simétrica bilateral poupando a cabeça e extremidades distais, hiperpigmentação cutânea, pelagem fina, infecções cutâneas, respiração ofegante, fraqueza muscular, letargia e, em machos, atrofia testicular compatível com hiperadrenocorticismo dependente da hipófise.Os sinais clínicos são sequelas da combinação de efeitos gliconeogênicos, lipolíticos, do catabolismo protéico, antiinflamatórios e imunossupressivos dos hormônios glicocorticóides sobre os diversos sistemas do organismo (FELDMAN et al., 1997). O HAC não tratado pode trazer diversas sequelas aos pacientes, como a diabetes melitus, hepatopatias, infecções, alterações cardíacas e musculo-esqueléticas, aumento do

catabolismo e dermatopatias (ZERBE et al., 1993).

2.3 Alterações Dermatológicas

De início, os cães que possuem HAC apresentam mudanças mais comuns na pelagem, como perda de brilho e do aspecto saudável (SCOTT et al., 1996), tornando o pelo facilmente removível (MULLER et al., 1985). Com o passar do tempo, o animal passa a ter alopecia e hipotricose. Na maioria dos casos, a alopecia é simétrica bilateral e envolve o tronco, poupando a cabeça e extremidades distais (SCOTT et al., 1996), porém, em cães de pelagem curta, a alopecia aparece mais frequentemente de maneira espessa e falhada (MULLER et al., 1985). Outro sinal cutâneo inicial que pode ser observado em alguns cães é a mudança na cor da pelagem, esta mudança pode envolver todo o comprimento da haste do pelo ou apenas as porções distais. No último caso, a mudança da cor do pelo parece devido ao descoloramento pelo sol, poreses não crescerem na velocidade normal. A mudança na cor uniforme parece ser mediada por hormônios sexuais. A mudança na cor da pelagem com outros poucos sinais de HAC é indicativa de um desequilíbrio do hormônio sexual gonadal ou de neoplasia adrenal, especialmente adenocarcinomas (SCOTT et al., 1996). A hiperpigmentação cutânea difusa é também um sinal frequente e pode ser encontrada em causas adrenais ou hipofisárias da síndrome de Cushing (FELDMAN et al., 1997). A calcinose cutânea pode ser vista em até 40% dos pacientes, mas a incidência nos casos precoces é baixa. Ocorre mais comumente sobre a parte dorsal do pescoço, nádegas ou na região axilar e inguinal. As lesões precoces são firmes, de pápulas à placas dérmicas esbranquiçadas. Com o tempo, a pele subjacente fica avermelhada, ulcera-se, e formam-se crostas. As lesões antigas podem parecer piodermites ou dermatites piotraumáticas e frequentemente são pruriginosas. Outras causas de prurido no HAC são a piodermite bacteriana, dermatite por malassezia, seborréia e demodicose (SCOTT et al., 1996). Flebectasias cutâneas são vistas em até 40% dos cães com HAC, especialmente no ventre e região medial das coxas. Estas lesões vasculares são maculares, papulares e eritematosas, com até 6mm de diâmetro. Úlceras de decúbito são comuns em cães grandes com HAC (SCOTT et al., 1996). Outros sinais cutâneos incluem pele fina e hipotônica (assemelha-se com desidratação, tendendo a formar vincos), contusões (petéquias e equimoses), seborréia (seca ou oleosa), comêdos (folículos pilosos preenchidos com queratina e debris usualmente pretos), cicatrização deficiente de feridas, piodermite bacteriana e estrias. As infecções de pele vista no HAC ocorrem principalmente em áreas hipotricóticas e alopécicas. Tipicamente, a infecção é folicular, mas pústulas grandes, superficiais não foliculares (impetigo bolhoso) com mínima inflamação podem ser vistas (SCOTT et al., 1996).

2.4 Diagnóstico

Deve ser realizado um exame clínico detalhado e realizar avaliação de todos os cães suspeitos (NELSON, 2001). Segundo Nichols et al. (1998), é de grande importância uma boa anamnese principalmente sobre o tratamento recente com glicocorticóides exógenos. No que diz respeito a análises laboratoriais, pode-se destacar a realização do hemograma que poderá apresentar policitemia, aumento da concentração de hemoglobina, trombocitose (MELIÁN et al., 2010; HERRTAGE, 2004) e leucocitose

(CAPEN & MARTIN, 1975). No leucograma podem ser encontradas alterações típicas de estresse como neutrofilia, eosinopenia, linfopenia e monocitose (CAPEN & MARTIN, 1975; FELDMAN, 1985; MELIÁN et al., 2010). Na bioquímica sérica, a principal alteração é o aumento da atividade da enzima fosfatase alcalina (FA), com valores de 4 a 50 vezes maior que o padrão de referência (HERRTAGE, 2000) devido a estimulação pela presença de esteróides (KIDNEY & JACKSON, 1988; RAYMOND, TARPLEY, LATIMER, & BAIN, 2004). No entanto, a dosagem da FA apesar de sensível é pouco específica (BEHREND & KEMPPAINEN, 2001; HERRTAGE, 2004). A alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima hepática que pode estar ligeiramente aumentada em pacientes com HAC devido a deposição de glicogênio nos hepatócitos, anecrose hepatocelular ou as alterações da circulação sanguínea hepática (HERRTAGE, 2004). Devido à estimulação da lipólise, as concentrações séricas de colesterol e triglicerídeos aparecem aumentadas em mais de 50% dos casos, porém, não são parâmetros específicos, visto que a hipercolesterolemia pode ser causada por hipotireoidismo, por diabetes mellitus e por doenças renais e hepáticas crônicas (HERRTAGE, 2000; MELIÁN et al., 2010). Dos exames hormonais para o diagnóstico do HAC, o teste de supressão por baixa dose de dexametasona é considerado o teste de triagem de eleição. O método radioimunoensaio é considerado padrão ouro na avaliação de cortisol (PÖPPL, 2008). O teste de supressão por baixa dose de dexametasona pode ser afetado pelo uso de fármacos anticonvulsivantes, glicocorticóides exógenos e doenças não relacionadas a adrenal (NELSON & COUTO, 2006). Outro teste utilizado é o teste de estimulação com ACTH, seu uso é mais para monitoração do controle da doença do que para o diagnóstico em si. Este teste se baseia no princípio de que após a aplicação do ACTH há um aumento de secreção de cortisol pelas adrenais de forma considerável (PÖPPL, 2008).

2.5 Tratamento

O conhecimento da causa do HAC é ideal para se estabelecer o tratamento, mas não é vital, mesmo porque a causa não é identificada em alguns casos. As opções médicas, cirúrgicas e as expectativas devem ser discutidas com o tutor do animal (FELDMAN et al., 1997). As células adrenocorticais possuem grande capacidade de regeneração após sofrer lesão química, por isso o tratamento para o HAC que destrua as células corticais devem ser repetidos periodicamente (HEILER, 2006). O mitotane (Lisodren®) é a melhor forma de tratamento para o HAC espontâneo. Esta droga é uma potente adrenocorticolítica com efeito citotóxico no córtex adrenal, causando necrose seletiva na zona fasciculada e reticular da adrenal (PETERSON et al., 2000). Um protocolo específico acompanhado de monitoramento da terapia com mitotane são recomendados, e o tratamento é realizado em duas fases, a terapia de indução e a terapia de manutenção (BEHREND et al., 1998). O cetoconazol também é utilizado por ser uma droga antimicótica de largo espectro, com baixa incidência de toxicidade, que causa inibição reversível da esteroidogênese adrenal e efeitos negligenciáveis sobre a produção de mineralocorticóides (NELSON & COUTO, 1994). A administração de baixas doses desta droga leva a uma redução significativa da concentração sérica de andrógenos, e em altas doses a secreção de cortisol é suprimida (FELDMAN et al., 1997). O fármaco trislostano é considerado “Gold Standard” para o tratamento da forma hipofise dependente do hipercortisolismo canino nos Estados Unidos e na Europa

(PÖPPL,2008).Nos países em que está disponível epraticamente ele substituiu o mitotano, por causa da facilidade de uso e a baixa incidência de efeitos colaterais (REINE,2007). Por outro lado, também existe a possibilidade do tratamento cirurgico através da adrenalectomia unilateral, sendo esta considerada o tratamento de escolha para o HAC adrenal-dependente. Porém, a realização desta intervenção cirúrgica deve ser avaliada em cada paciente, pois a presença de mestástases ou de tumores não operáveis, assim como o estado clínico do paciente podem contra indicar a realização desta cirurgia (NELSON, 2006).Para o HAC hipófise-dependente,pode ser realizada a hipofisectomia, apesar de não ser o tratamento mais utilizado em medicina veterinária em vários países pelas várias condições impostas para a sua execução, tais como indisponibilidade financeira do proprietário para a cirurgia, bem como a necessidade da manutenção no pós-operatórioem clínica especializada (MEIJ et al. 2002).

2.6 Prognóstico

O prognóstico em cães tratados é bom, tendo sobrevida média de trinta a trinta e seis meses a dependerda idade, estado geral e compromisso do tutor com o tratamento (NELSON, 2003). Para os casos cirúrgicos, o prognóstico é reservado, devido ao grande número de complicações pós-cirúrgicas, como má cicatrização, imunossupressão e tromboembolismo. Apesar disso, cerca de 80% dos cães submetidos à cirurgia, sobrevivem após período de recuperação que é de aproximadamente 30 dias (FELDMAN et al, 1997).

3 Considerações

O HAC, apesar de ser uma afecção que apresenta grande quantidade de sinais clínicos e evolução lenta, deve ter seu diagnóstico realizado com a ajuda do histórico apresentado pelo tutor, pelos sinais clínicos,exames físicos e laboratoriais. Contudo, merece destaque as alterações dermatológicas como alopecia, hipotricose, mudanças na pigmentação, calcinose cutânea e flebectasias cutâneaspor serem facilmente detectadas pelos tutores. Ressaltando, a importância do diagnóstico diferencial devido a maioria das alterações tegumentares estarem presentes em animais portadores de outras afecções.



Figura A: Alopecia bilateral(FELDMAN,1997); Figura B : Hipotricose e alopecia generalizada poupando cabeça e membros (LEITÃO , 2011);

Agradecimentos e apoios

Agradeço pela oportunidade de acrescentar conhecimento na comunidade acadêmica.

Referências

- BANKS, William J. **Histologia Veterinária Aplicada**. Ed. Manole, 2ª edição, Rio de Janeiro, 1991.
- FELDMAN, E.C.; Ettinger, J.S. **Tratado de Medicina interna veterinária**. Ed. Manole, 5ª edição, São Paulo, 1997.
- HEILER, H.; REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**. Ed. Guanabara Koogan, 12ª edição. Rio de Janeiro, 2006.
- HERRTAGE, M. E. **Manual of Canine and Feline Endocrinology**, 3ª ed., Gloucester, British Small Animal Veterinary Association, 2004.
- HESS, R.S; **The Veterinary Clinics of the North America. Small animal practice**. Philadelphia, v. 40, 2010.
- KEMPPAINEN, R. J.; BEHREND, E. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** v. 27, n. 2, 1997.
- KIDNEY, B.; JACKSON, M. Diagnostic value of alkaline phosphatase isoenzyme separation by affinity electrophoresis in the dog. The Canadian Veterinary Research, Saskatoon, 1988.
- LEITÃO, N.L.B.N. Diagnóstico de hiperadrenocorticism canino e tratamento com trilostano- Estudo retrospectivo de 20 casos clínicos, Lisboa, 2011.
- MEIJ, B., VOORHOUT, G., & RIJNBEEK, A. Progress in transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs and cats. Molecular and Cellular Endocrinology, Utrecht, 2002.
- MELIÁN, C., PÉREZ-ALLENZA, M. D., & PETERSON, M. E. Canine Hyperadrenocorticism. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, Textbook of Veterinary Internal Medicine (7ª ed., Vol. 2). Philadelphia, 2010.
- MULLER, G. H.; KIRK, R. W.; SCOTT, D. W. **Dermatologia em pequenos animais**. 3ª edição, ed. Manole, São Paulo, 1985.
- NELSON, R. W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 2ª. Edição, Ed.: Guanabara koogan, Rio de Janeiro, 2001.
- NICHOLS, R.; PETERSON, M. E.; MULLEN, H. S.; Glândulas Adrenais. In: BICHARD, S. J. & SHERDING, R.G.. Manual Saunders. Clínica de Pequenos Animais. Editora ROCA, São Paulo, 1998.
- OLIVEIRA, S. T.; Transtornos dos hormônios adrenais em cães. **Seminário apresentado na matéria de Bioquímica do Tecido Animal no curso de Pós-graduação em ciências veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2004.

PETERSON, M. E. **Update on treatment of canine hyperadrenocorticism.** In: ANNUAL VETERINARY MEDICAL FORUM, 18; 2000, Seattle: American College of Veterinary Internal Medicine, 2000.

PETERSON, M.E. Distúrbios endócrinos e metabólicos. In: BIRCHARD, S.S., SHERDING, R.G. Clínica de pequenos animais. São Paulo: ed. Roca, 1998.

PÖPPL, A.G., **Apostila de Endocrinologia de cães e gatos**, 2008.

RAYMOND, J. L., TARPLEY, H. L., LATIMER, K. S., & Bain, P. J. (2004). Alkaline phosphatase activity as a clinical chemistry diagnostic Aid. Obtido em 12 de Novembro de 2010, de Veterinary Clinical Pathology Clerkship Program: <http://vet.uga.edu/vpp/clerk/raymond/index.php>.

REINE, N. P. Medical management of pituitary-dependent hyperadrenocorticism: mitotane versus trilostane. Clinical Techniques in Small Animal Practice , 2007.

SCOTT, D.W; MILLER, W. H; GRIFFIN, C.E. **Dermatologia de pequenos animais.** IN Hiperadrenocortcismo canino. Inter livros Rio de Janeiro, 1996.

ZERBE, C. A.; MacDONALD, J. M. **Current veterinary dermatology: the science and art of therapy.** St Louis: Mosby YearBook, 1993.

ANÁLISE DA VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA DO CEFALOTÓRAX ENTRE MACHOS E FÊMEAS DO CAMARÃO *LITOPENAEUS VANNAMEI* (BOONE, 1931)

Lucas Vinícius Santos Silva¹, Cecília Fernanda Farias Craveiro¹, Ana Odete de Melo Eloi da Silva¹, Leandro Nolé Eduardo¹, Hildemario Castro Neto¹, Marcelo Augusto Soares Rego²

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

²Instituto Federal de Sergipe – IFS – campus Estância
contatolucassantoss@gmail.com

Resumo

Objetivou-se investigar a possibilidade de dimorfismo sexual na forma do cefalotórax do *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), utilizando morfometria geométrica. As amostras foram coletadas em agosto/2016 de uma fazenda de cultivo comercial. A partir de uma amostra de 20 camarões (10 fêmeas e 10 machos) foram extraídos os cefalotórax. Foram capturadas 20 imagens dos cefalotórax sendo realizado oito marcos anatômicos, utilizando o TpsUtil e TpsDig2. A forma de coordenadas dos marcos foi obtida pela análise de Procruste, realizadas pelo software MorphoJ. Os dados numéricos foram analisados por análise de variáveis canônicas (CVA). A PCA demonstrou que as quatro primeiras componentes somam uma contribuição de 91,21% da variação total ocorrida, já a análise das variáveis canônicas a primeira CV representou 100% da variação total. A Função do Discriminante analisou e estimou as distancias de Mahalanobis $D^2 = 2,27$ e a distancia de Procrustes = 0,018. Convergindo o resultado satisfatório para a distinção pelo sexo para o *L. vannamei*.

Palavras chave: morfometria geométrica, dimorfismo, crustacea, peneídea.

1 Introdução

O camarão branco do pacífico *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) é uma espécie originária do pacífico oriental. Esta espécie é a mais cultivada mundialmente possuindo grande aceitação de mercado, alta taxa de crescimento em ambiente de cultivo (ANDREATA & BELTRAME, 2004) e que apresenta dimorfismo sexual aparente. Estas diferenças morfológicas entre os sexos mediadas pela ação dos hormônios sexuais é uma condição dominante. Geralmente, as fêmeas atingem tamanhos maiores que os machos (GOPAL *et al.*, 2010) e aparentam órgãos sexuais visíveis, os quais é possível defini-los. A existência do dimorfismo sexual em *L. vannamei* é um fato popularmente conhecido, porém Barría *et al.*, (2011) afirma que é necessário realizar estudos mais específico para avaliar as diferenças mínimas morfológicas nas estruturas do corpo que não são percebidas pela morfometria tradicional. O autor acrescenta que a morfometria geométrica é uma ferramenta muito

útil para atender esta finalidade e sua utilização para avaliar a discriminação entre os sexos tem se intensificado.

A utilização da morfometria geométrica para avaliar o dimorfismo sexual são perfeitamente adequadas tendo em vista que os marcos homólogos do exoesqueleto rígidos torna-se preciso (RUFINO *et al.*, 2004). Além disso, informações biológicas obtidas através da análise de dimorfismo sexual são muito úteis em estudos taxonômicos, ecológicos, comportamentais e evolutivos. Nesse sentido, os estudos morfométricos, por meio do uso de ferramentas da morfometria geométrica, são importantes para a investigação das diferenças existentes entre as espécies de crustáceos, bem como padrões de variação em uma mesma espécie.

Embora, a existência de dimorfismo sexual em espécimes de *L. vannamei* seja um fato conhecido, estruturas morfológicas não foram avaliadas por meio de técnicas morfométricas eficientes, principalmente no que se diz respeito a indivíduos criados em cativeiro. Além disso, os estudos científicos em relação ao potencial de cultivo atrelado à espécie *L. vannamei* sejam comuns, persiste a carência de informações que possibilite compreender as respostas nas diferentes situações de confinamento as quais são submetidos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é investigar o potencial dimorfismo sexual na forma da carapaça do cefalotórax do *L. vannamei* utilizando a morfometria geométrica.

2 Material e Métodos

O material de estudo foi proveniente de uma fazenda de cultivo de camarão marinho localizada no litoral norte do estado de Pernambuco, Brasil. Ao todo foram 20 animais, sendo 10 fêmeas e 10 machos. Em laboratório, foi registrado o comprimento da carapaça - CC (cm) (distância tomada desde a parte posterior da órbita ocular até a parte mediana posterior da carapaça); comprimento total do corpo - CT (cm); peso (g) e a classificação em relação ao sexo. Nas fêmeas foi observada a presença do télico e nos machos foi observada a presença do petasma, que são as estruturas reprodutivas dos camarões.

Após a realização da sexagem dos animais, foram retirados os cefalotórax. O cefalotórax foi a estrutura corporal escolhida para o estudo da variação na forma por ser uma estrutura anatômica rígida e que não deforma com facilidade, viabilizando a captura das imagens e a determinação dos marcos anatômicos. O cefalotórax de 20 indivíduos de *L. vannamei* foi fotografado utilizando-se uma câmera fotográfica digital Samsung NX2000 com resolução de 20.3 megapixels com lente de 50 mm, há 90° em relação ao plano e um tripé com distância de 50 cm das amostras. Após o registro digital das carapaças dos animais foi utilizado para a conversão e para a obtenção do banco de dados o software tpsUtil e o tpsDig2 (ROHLF, 2006) utilizado para a determinar os 8 marcos anatômicos nas imagens (Figura 1).

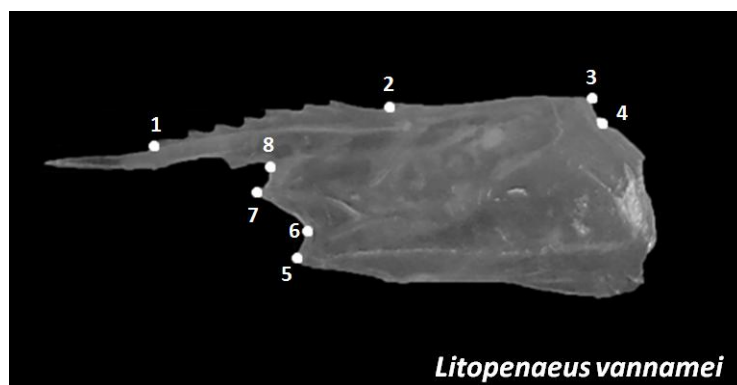


Figura 1: Cefalotórax do *Litopenaeus vannamei* (vista lateral) com oito marcos anatômicos. (1) inserção do primeiro espinho no rôstro; (2) inserção do ultimo espinho; (3) final do cefalotórax; (4) reentrância abaixo do ponto final do cefalotórax; (5) base para o primeiro espinho lateral; (6) reentrância do primeiro espinho lateral; (7) base para o segundo espinho; (8) reentrância do segundo espinho lateral.

Para obtenção das variáveis em forma de coordenadas (X e Y) a partir dos marcos anatômicos, foi utilizado o software MorphoJ. Os dados gerados através da digitalização dos marcos possuem efeitos de tamanho, orientação e posição, os quais precisam ser removidos para análise da forma, até que a medida entre as configurações sejam mínimas possível para análise de Procrustes (MONTEIRO & REIS, 1999; BISSARO et al., 2012). Para análise de deformações foi utilizada a técnica “thin plate spline” desenvolvida por BOOKSTEIN (1991). Os componentes principais de forma (deformações relativas) gerados por esta técnica foram usados nas análises de agrupamento das amostras. A visualização das diferenças de forma entre os indivíduos foi feita através de deformações geradas pelo programa MorphoJ, versão 1.06.

3 Resultados e Discussão

Os indivíduos variaram entre o comprimento da cabeça, comprimento do corpo e peso (Tabela 1). A análise dos Componentes Principais (PCA) foi distribuída em 12 componentes principais, porém as quatro primeiras componentes somam uma contribuição de 91,21% da variação total ocorrida (Figura 2). Também não foi observada uma tendência ou uma trajetória ontogênica na relação do centróide com a primeira componente, devido ao intervalo de comprimentos dos animais que não variou muito (Tabela 1). Não foi possível observar nenhuma tendência de crescimento decorrente da uniformização dos tamanhos dos animais. Geralmente, as fazendas de cultivo comercial despescam os viveiros quando os indivíduos atingem o tamanho que será absorvido pelo mercado alvo, dessa forma os tamanhos são padronizados.

	Máximo	Mínimo	Média	σ
Comp. da Cabeça (cm)	2,92	2,092	2,33	0,18
Comp. Total (cm)	10,4	12,5	11,29	0,6
Peso (g)	7,95	14,13	10,6	1,57

Tabela 1. Médias, valores máximos, mínimos e desvio padrão do comprimento da cabeça (cm); comprimento total (cm) e peso (g) para os exemplares de *L. vannamei* capturados (σ = Desvio Padrão)

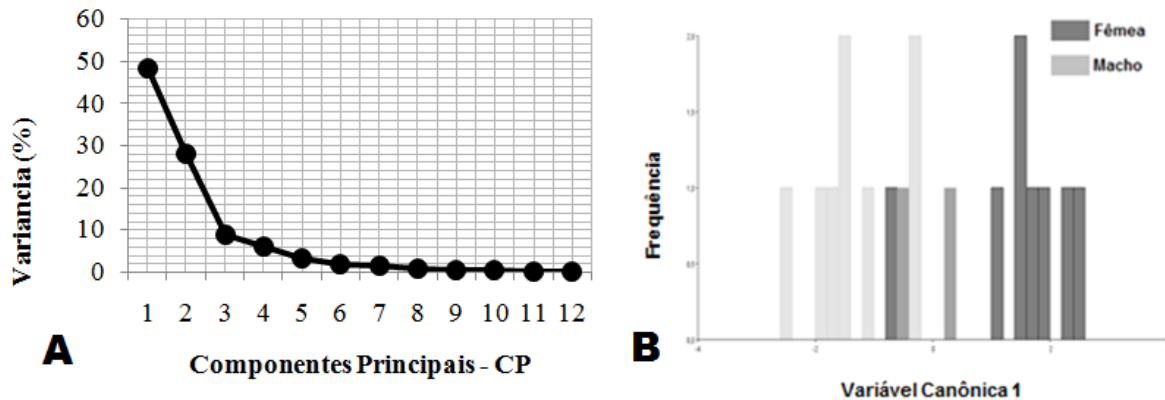


Figura 1: (A) Gráfico das porcentagens dos autovalores das doze componentes principais e suas respectivas contribuições de variações do *L. vannamei*; (B) Comparação entre a forma do corpo entre machos e fêmeas de *L. vannamei* a partir da primeira variável canônica.

Para a Análise das Variáveis Canônicas (CVA), a primeira variável representou 100% da variação total da amostra, no qual observamos a distinção entre os grupos de machos e fêmeas (Figura 3). Nesta análise multivariada podemos observar a diferenciação e agrupamento em sexos, fato esse que através de análise de componentes principais (PCA) não observamos.

Foi possível observar também a partir do gráfico (Figura 3), que há uma sobreposição entre machos e fêmeas que pode ser explicado pelo fato de que os indivíduos diferem geometricamente com o passar do tempo, indivíduos que não atingiram a maturidade sexual tem suas estruturas rígidas mais semelhantes do que os indivíduos mais velhos. Alberch *et al.*, (1979) associam esta diferença a partir da variação fenotípica influenciada por variações em taxas de crescimento, alimentação ou comportamento. Cadrin (2000), afirma que muitos crustáceos decápodes apresentam alterações acentuadas até a maturidade sexual, como resultado do crescimento descontínuo. Os indivíduos avaliados neste estudo não atingiram a maturidade sexual, que pode ser um fator que possa contribuir ainda mais no estudo da forma e nas mudanças ocorridas ao longo do tempo.

A Função do Discriminante analisou e estimou as distâncias de Mahalanobis $D^2 = 2,27$ e a distância de Procrustes = 0,018. Dessa forma, é bem evidente a detecção de diferenciação entre machos e fêmeas de acordo com a maturidade do animal, ou seja, quanto mais velho e maior, mais evidente a diferenciação. O dimorfismo sexual representado por morfometria geométrica para o *L. vannamei* no presente estudo, demonstra fêmeas com o cefalotórax mais robusto do que os machos. Thiel (2003) observou resultados semelhantes, nos quais as fêmeas apresentaram abdomens mais largos, e correlacionou como sendo uma condição importante para espécies que não apresentam cuidado parental. Estas diferenças entre o sexo do *L. vannamei* em diferentes estágios de ontogenia são de grande importância para a carcinicultura, com o intuito de manipular técnicas de populações monosssexo e por assegurar um tamanho uniforme dos

animais de cultivo relacionado ao dimorfismo sexual (ACIOLLY *et al.*, 2014).

O crescimento é um fator que altera as proporções lineares em relação à área e o volume (PERES-NETO, 1995), além de estabelecer alterações nas proporções ao longo do crescimento (alometria). A morfometria tradicional considera a variação e a covariação de medidas de distancia, ou seja, analisa como e quanto essas medidas variam e estão relacionadas entre si (MORAIS, 2003). Entretanto a morfometria geométrica diferentemente da tradicional propõe a análise e quantificação dessa variação, mas também permite a visualização de forma gráfica, clara e sucinta dessas diferenças (MORAES, 2003). Em determinados grupos de animais a identificação precoce do sexo tem um grande valor econômico e biotecnológico relacionado com as práticas de cultivo e produção (ACIOLLY *et al.*, 2014).

Estudos abordando a morfometria geométrica podem representar uma ferramenta importante para a gestão adequada das unidades populacionais de *L. vannamei*, sendo necessário realizar pesquisas posteriores que possam permitir estimar a diferenciação sexual durante as fases ontogenéticas iniciais e subsidiar o desenvolvimento de protocolos e estratégias de cultivo.

4 Conclusão

Em muitos grupos de animais, identificação precoce do sexo tem um enorme valor biotecnológico e está relacionado com práticas de gestão que aumentam a produção dos indivíduos em cativeiro. Além disso, são ferramentas úteis para estabelecer informações taxonômicas e ecológicas sobre os indivíduos.

As técnicas de morfometria geométrica aplicadas têm grande importância no auxílio de estudos biológicos como crescimento, reprodução, estudos fundamentais a produção de animais. O dimorfismo sexual desta espécie está associado com estruturas funcionais relacionadas com a adaptação, porém torna-se necessário que sejam realizados estudos que comparem indivíduos selvagens e indivíduos de cativeiro para se obter um resultado mais preciso.

5 Referências

- ACCIOLLY, Ingrid Vilar; LIMA-FILHO, P.A.; SANTOS, T. L.; BARBOSA, A. C. A.; CAMPOS, L. B. S.; SOUZA, J. V.; ARAUJO, W. C.; MOLINA, W. F. **Sexual dimorphism in *Litopenaeus vannamei* (Decapoda) identified by geometric morphometrics**. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, v. 8, p. 276-281, 2013.
- ANDREATTA, E. R.; BELTRAME, E. **Cultivo de camarões marinhos**. In: POLI, C.R., et al. **Aquicultura: experiências brasileiras**. Florianópolis: Mulritarefa. p. 199-220, 2004.
- BARRÍA, E. M., SEPÚLVEDA, R. D., & JARA, C. G. **Morphologic variation in *Aegla leach* (Decapoda: Reptantia: Aeglidae) from centralsouthern Chile: interspecific differences, sexual dimorphism, and spatial segregation**. Journal of Crustacean Biology, 31: 231-239, 2011.

BISSARO F.G., J.L. GOMES-JR & A.P.M.D. BENEDITTO. **Morphometric variation in the shape of the cephalothorax of shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* on the east cost of Brazil.** Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 1-9, 2012.

BOOKSTEIN F.L. **Morphometric tools for landmark data: geometry and biology.** 1st edition. Cambridge: Cambridge University Press, 1991.

CADRIN, S. X. **Advances in morphometric identification of fishery stocks.** Reviews in Fish Biology and Fisheries, 10: 91-112, 2000.

GOPAL, C., GOPIKRISHNA, G., KRISHNA, G. **Weight and time of onset of female superior sexual dimorphism in pond reared *Penaeus monodon*.** Aquaculture, 300: 237-239, 2010.

H.; WEST, G. B. (org.). **Scaling in Biology.** New York: Oxford University Press, 2000.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. **Princípios de morfometria geométrica.** 1. ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, v. 1. 188p , 1999.

MORAES, D. A. **A Morfometria Geométrica e a sua “Revolução na Morfometria”: localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos.** Boletim, ano III, nº 3, 2003.

PERES-NETO, P. R. **Introdução a análises morfométricas.** Oecologia Brasiliensis, Rio de Janeiro, v. 2, p. 57-89, 1995.

ROHLF, F. J. **TpsDig Ver. 2.10, Digitalized Landmarks and Outlines.** Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, New York, 2006.

RUFINO, M. M., ABELLO, P., & YULE, A. B. **The effect of alcohol and freezing preservation on carapace size and shape in *Liocarcinus depurator* (Crustacea, Brachyura).** Pp. 45-53. In: Elewa A. M. T. (Ed.). Morphometrics: applications in biology and paleontology. Springer, New York, 2004.

THIEL, M. **Enlarged parental care in crustaceans - An update.** Chilean Magazine of Natural History, 76: 205-218, 2003.

ANATO-BINGO COMO JOGO DIDÁTICO EM ANATOMIA TOPOGRÁFICA NO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Cláudio Barboza de Andrade, Luiza Borba de Almeida Madruga, Carla Aparecida de Lima Batista, Hadassa Bezerra Melo, Maria Clara Corrêa Verzolla, Rosilda Maria Barreto Santos.

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
andradeclb@hotmail.com

Resumo

A disciplina de anatomia topográfica propõe o estudo anatômico do animal por regiões do corpo, utilizando-se animais doados a Universidade Federal Rural de Pernambuco nas aulas práticas da disciplina. A utilização do anato-bingo visa reforçar o entendimento do conteúdo da disciplina mediado pela professora e pelos monitores, uma vez que facilitaria a identificação de estruturas anatômicas das regiões abordadas na aula, sendo um método de revisão didática entre os alunos.

Palavras chave:Anato-bingo, Anatomia Topográfica, Aula Prática, Dissecção, Medicina Veterinária.

1 Introdução

O estudo das regiões anatômicas dos animais domésticos é importante pois capacita o aluno a identificar a estratigrafia, estruturas e importância medico-cirúrgica das regiões, sendo esses os objetivos da disciplina de anatomia topográfica no curso de medicina veterinária na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As aulas práticas são ministradas após as aulas teóricas e proporcionam o contato dos alunos com os animais que são doados ao departamento de anatomia da UFRPE, na prática os alunos dissecam os animais com o objetivo de identificar estruturas nas regiões do corpo animal.

A utilização de jogos como recurso didático tem o objetivo de tornar dinâmico o processo de ensino-aprendizagem, facilitando a compreensão dos assuntos ministrados para que os discentes tenham um rendimento mais satisfatório na disciplina. Nesse contexto, é importante buscar recursos que ajudem os alunos no processo de formação, para que esses compreendam os conteúdos.

Os monitores são responsáveis em auxiliar os alunos durante o curso da disciplina e segundo SOUSA e FRENEAU (2016, p. 3575) “Durante a aula existe a assistência aos alunos no manejo dos animais e na utilização instrumentos e equipamentos, além do acompanhamento nas atividades práticas e o esclarecimento de dúvidas”, assim, durante as aulas práticas os monitores, sob orientação da professora responsável da disciplina de anatomia topográfica dos animais domésticos, instruem os alunos a como dissecarem o animal e a identificar as estrutura.

Logo, o jogo desenvolvido pelos monitores tem o objetivo principal de revisar o que foi visto nas aulas teóricas e práticas de anatomia topográfica, fazendo os alunos estudarem para fixar o conteúdo e obterem os objetivos da disciplina.

2 Material e métodos

Para elaboração do anato-bingo, utilizou-se livros de anatomia animal adotados como bibliografia pela professora da disciplina. Foi elaborado o slide com 20 imagens variadas de regiões e estruturas anatômicas digitalizadas do livro Anatomia Topográfica Veterinária, os nomes das estruturas foram cortados da imagem e setas foram colocadas para identificar a região ou estrutura que deveria ser identificada para preencher a cartela do bingo. A cartela do bingo foi elaborada com espaços em branco que deveriam ser preenchidas pelos alunos de acordo com a sequência de regiões e estruturas previamente fornecidas no slide.

Após a finalização do jogo, os alunos foram convidados a responder um questionário avaliativo do anato-bingo, onde eles responderam perguntas objetivas sobre o que acharam da utilização do bingo como recurso didático.

3 Resultados e discussão

A aplicação de um recurso didático que venha a facilitar o aprendizado do aluno é fundamental no processo ensino-aprendizagem, sendo o professor o mediador do processo. O programa de monitoria da UFRPE, propõe que os monitores sejam estimulados a desenvolver atividades sob orientação dos docentes que proporcionem o contato com a docência, bem como o contato com os alunos das disciplinas auxiliando-os no entendimento dos conteúdos das aulas práticas. Dessa forma, a elaboração de jogos como recurso didático estimula os monitores a buscar o conhecimento e métodos que possibilitem o entendimento do conteúdo de forma lúdica para que os alunos possam melhorar seu desempenho na disciplina compreendendo de forma clara e objetiva o conteúdo ministrado.

De acordo com MORAIS et al (2016, p. 2470) “[...]uso de instrumentos voltados para a orientação de acadêmicos[...] é uma intervenção positiva para seu

aprendizado[...]" logo, a utilização do anato-bingo o beneficia o discente quanto a compreensão do conteúdo abordado, sendo importante também o contato do monitor com o aluno, que percebendo as dificuldades dos alunos consegue, juntamente com o professor, desenvolver estratégias que possibilitem resolver esses problemas de aprendizado.

Frison (2016, p. 145) enfatiza a “[...]relevância da monitoria, a qual não se refere ao ensino explícito do conteúdo, mas à aprendizagem, ao uso das diferentes estratégias para potencializar o aprender[...]”, diante disso, pode-se dizer que o uso de jogos para revisar os conteúdos das aulas práticas facilita o aprendizado do aluno, e estimula o monitor a sempre buscar novos métodos que venham a promover o desenvolvimento do aluno.

O anato-bingo desenvolvido pelos monitoresapresenta estruturas como os músculos, vasos e nervos,que são identificadas nas regiões da cabeça e pescoço. Participaram da atividade 22 alunos da turma de anatomia topográfica do primeiro semestre de 2017, esses receberam as cartelas em branco e deveriam preenche-las com as palavras que lhes foram apresentadas no primeiro slide do anato-bingo. Em seguida foram orientados de como o bingo iria funcionar e suas regras. Cada slide ficava disponível por 2 minutos para que os alunos identificassem a estrutura e se ela correspondesse a algum item preenchido na cartela, deveriam marcar um x na cartela.

Apenas 6, dos 22 alunos presentes na atividade, não conseguiram finalizar a cartela pois não conseguiram identificar as estruturas e perderam. Mas, ao fim do bingo, foi realizado uma revisão juntamente com a professora responsável pela disciplina para que as dúvidas pudessem ser esclarecidas. Os 3 primeiros colocados receberam um brinde e a turma toda foi agraciada pela professora com uma pontuação extra na primeira avaliação de aprendizagem da disciplina.

Para avaliar se o bingo foi realmente uma ferramenta que facilitou o entendimento, um questionário foi aplicado. Dessa forma, foi possível concluir que o mesmo facilitou o entendimento em relação ao conteúdo, contudo alguns alunosainda optam em utilizar fontes complementares. Os discentes demonstraram interesse pelo material e mostraram-se interessados em interagir com os monitores, fazendo e respondendo as perguntas. Assim, a utilização desse recurso trouxe uma nova perspectiva para os estudantes e monitores quanto ao processo ensino-aprendizagem, já que a partir dele, pontos foram abordados na revisão, como a estratigrafia das regiões anátomo-topográficas, as importâncias médico-cirúrgicas e as formas de incisão para melhor visualizar as estruturas.

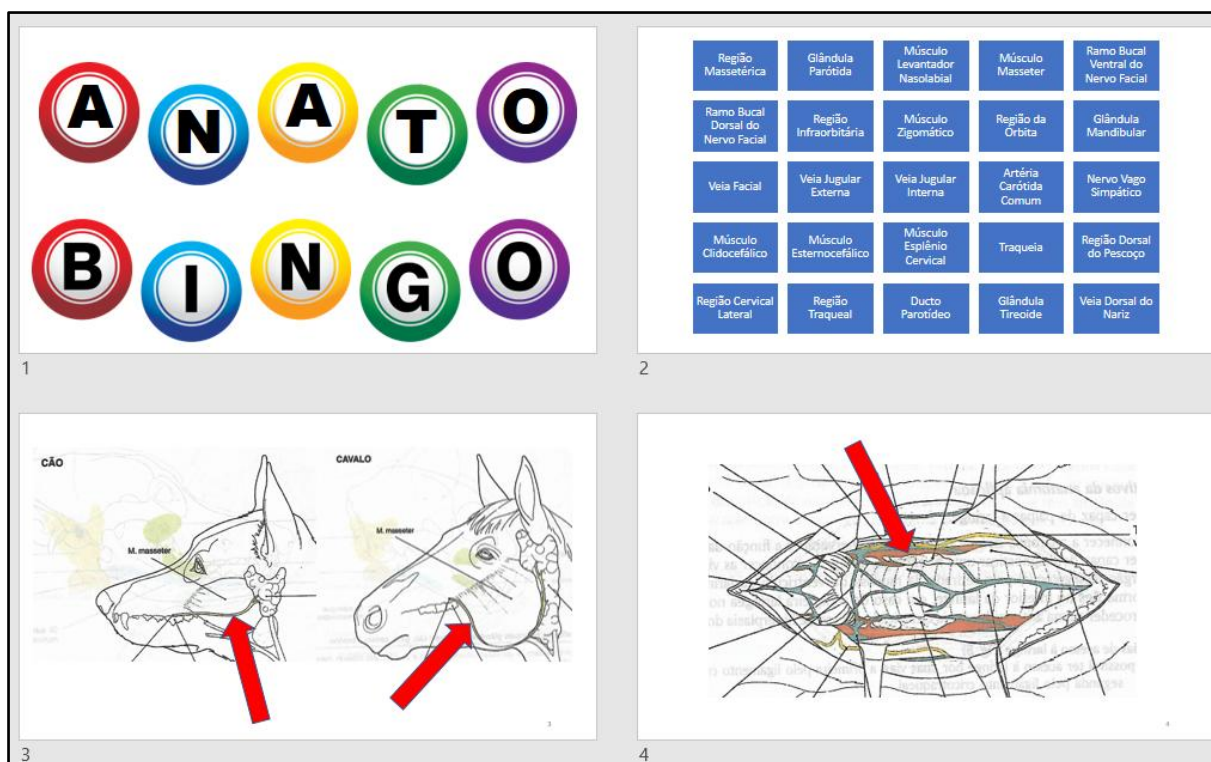


Figura 1: Alguns dos slides utilizados no Anato-bingo.



Figura 2: Cartela do Anato-bingo.

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Anatomia
Anatomia Topográfica Veterinária
Avaliação do Anato Bingo

1. A identificação das estruturas foi fácil?
Sim () Não ()

2. Você teve alguma dificuldade de identificar as estruturas?
Sim () Não ()

3. Gostaria de ter outros jogos para revisar assuntos futuros?
Sim () Não ()

Figura 3: Questionário de avaliação do Anato-bingo.

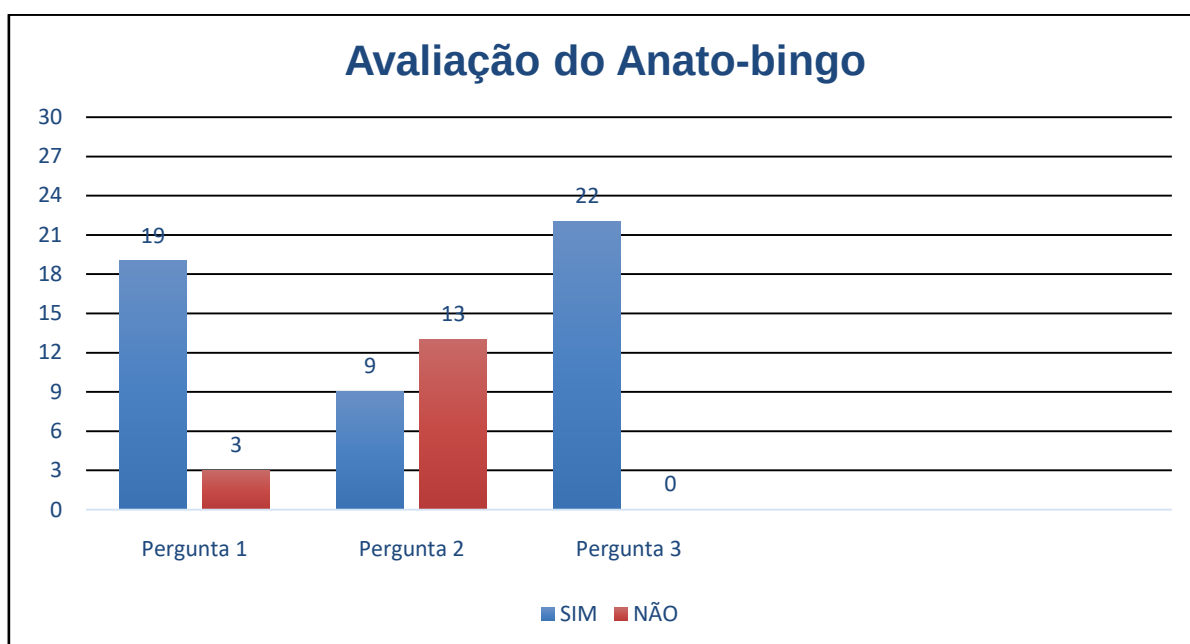


Gráfico 1: Avaliação do Anato-bingo.

4 Conclusão

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o anato-bingo funcionou como o esperado, uma vez que todos os objetivos foram alcançados e novos pontos foram levantados durante a realização da atividade com a turma. Assim, pretende-se

realizar outros bingos para aulas futuras, aperfeiçoando-os com os novos pontos que foram levantados, para que os alunos possam revisar o conteúdo ministrado em aula e tirar suas dúvidas, bem como se auto avaliar.

Além disso, a aplicação do bingo proporcionou aos monitores a perspectiva de como avaliar os alunos e quais métodos utilizar como didática para adequar o conteúdo, facilitando o entendimento.

Agradecimentos e apoios

Agradecemos a turma de medicina veterinária SV3 do segundo período de 2017.1 por aceitarem participar das atividades com o bingo e responderem as questões avaliativas.

Referências

- EVANS, H. E; LAHUNTA, A. **Guia para a dissecação do cão**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, [199-?].
- FRISON, L. M. B. Monitoria: uma modalidade de ensino que potencializa a aprendizagem colaborativa e autorregulada. **Pro-Posições**. São Paulo, v. 27, n. 1 (79), p. 133-153, 2016.
- GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986.
- MERIGHI, A. **Anatomia topográfica veterinária**. 1. Ed. São Paulo: Revinter, 2010.
- MORAIS, A. C. S. et al. Relato de experiência. Monitoria de doenças infecciosas e parasitárias no auxílio aos alunos de medicina da UFG. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO, 13º, 2016, Goiás. **Anais do XIII CONPEEX**. Goiás: UFG, 2016. Disponível em: <<http://eventos.ufg.br/SIEC/portalproec/sites/site11383/site/index.html>>. Acesso em: 22 mai. 2017.
- SOUSA, G. C; FRENEAU, G. E. Relato de experiência da monitoria da disciplina de reprodução animal no semestre 2016/1. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO, 13º, 2016, Goiás. **Anais do XIII CONPEEX**. Goiás: UFG, 2016. Disponível em: <<http://eventos.ufg.br/SIEC/portalproec/sites/site11383/site/index.html>>. Acesso em: 22 mai. 2017.

ASPECTOS CLÍNICOS E ALGUMAS CONCEPÇÕES POPULARES SOBRE ERISPELA EM DIFERENTES REGIÕES DE PERNAMBUCO.

Maria Hosana Monteiro da Silva¹, Natália Barbosa Gonçalves¹, Mikaella de Andrade dos Santos¹, Maria Elizabete Alves Pereira², Ingrid Fonseca da Silva², Argus Vasconcelos de Almeida³.

^{1,2}Graduandas do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N- Dois Irmãos, PE, CEP 5217-900.

³Professor titular, Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N- Dois Irmãos, PE, CEP 5217-900. (nataliabarbosa52@hotmail.com)

Resumo

A Erisipela é uma infecção cutânea que geralmente é causada por uma bactéria do grupo A nomeada de *Streptococcus pyogenes*. A bactéria entra no organismo através de pequenas aberturas como ferimentos diversos na mucosa e na pele, picadas de inseto, micoses, etc. O objetivo desta pesquisa foi descrever os tratamentos, contágios e outras características importantes sobre Erisipela, ressaltando o lado cultural e o científico. Os dados da pesquisa foram obtidos através de questionários com entrevistados do interior do estado e da região metropolitana do Recife. Notou-se que os três primeiros entrevistados relacionaram a doença com a medicina popular, mas, não deixaram de enfatizar a utilização da medicina clínica. No entanto, foi observado que os dois últimos entrevistados por serem profissionais de saúde relacionaram a doença apenas a medicamentos e aspectos clínicos, onde se pode concluir que são verdadeiramente eficazes.

Palavras chave: Bactéria, pesquisas, cultural, científico, clínico.

1 Introdução

A erisipela é uma infecção caracterizada pela presença de lesão infiltrada, com bordas bem definidas e com importante envolvimento dos vasos linfáticos. É uma infecção da derme originada de uma solução de continuidade do revestimento cutâneo-mucoso, por onde os germes penetram. É também conhecida como "fogo de Santo Antônio", "izipa", "zipa" e "vermelhão". (PINTO, 1994, p.237 a 240).

O contágio da doença se dá por conta da infecção cutânea causada pelo rompimento da epiderme. A área afetada apresenta borda nítida, que avança com a progressão da infecção e o patógeno instala-se no tecido subcutâneo e na derme e alguns mecanismos inflamatórios são explicitados como resposta ao ataque bacteriano, particularmente, em quadros de rinite e sinusite (SOUZA, 2003). Os sintomas se caracterizam por febre, anorexia, calafrios, outros sintomas gerais, leucocitose e lesão cutânea em placa

eritematosa, edematosa e dolorosa. Dessa placa podem ter origem faixas eritematosas ao longo do trajeto de vasos linfáticos (linfangites). Vesículas e bolhas podem ser observadas- erisipela bolhosa (FREITAS *et.al*, 2009).

Os autores modernos não concordam a respeito da verdadeira natureza da Erisipela. Uns consideram-na como uma simples dermatite, outros pelo contrário, fazem dela uma moléstia febril mais ou menos semelhante aos exantemas, que são erupções cutâneas que ocorrem em doenças agudas provocadas por vírus ou cocos. Sendo definida como: um exantema agudo e contagioso caracterizado especialmente por uma inflamação extensiva da pele com rubor e tumefação, terminando ordinariamente por resolução e descamação, algumas vezes por supuração, excepcionalmente por gangrena. (CARNEIRO, 1876, p.13-18).

As bactérias que causam a erisipela são os estreptococos do grupo A (*Streptococcus pyogenes*). Em menor porcentagem, outros estreptococos beta-hemolíticos, nomeadamente dos grupos B, C e G, podem está na sua origem. Os estudos microbiológicos revelam uma incidência de 10-17% para a etiologia estafilocócica (*Staphylococcus aureus*), embora alguns autores questionem o caráter patogênico do seu isolamento, sobretudo quando é obtido a partir de amostra de pele. Indicando que a terapêutica antimicrobiana num doente imunocompetente deve centrar-se, primeiramente, nos cocos gram positivos. Os bacilosgram negativos (nomeadamente *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, enterobacteriáceas), de forma isolada ou associada a outros agentes (cocos gram positivos) também podem ser responsáveis pela infecção. (CAETANO; AMORIM 2005, p.386).

Deve-se fazer uma avaliação da lesão a ser tratada, pois há necessidade de não só observar o aspecto do ferimento, mas também é inevitável avaliar as dificuldades do paciente de forma geral (ALCANTARA; ALCANTARA, 2010). O Tratamento clínico da doença é realizado através de antibióticos para o combate dos microrganismos. Segundo Souza (2003): [...] numerosos estudos têm demonstrado a eficácia clínica da penicilina no tratamento da maioria das infecções por estreptococos do grupo A. A redução da eficácia da penicilina, na presença de grande concentração do microrganismo, pode ocorrer, justificando a falência da penicilina no controle de infecções estreptocócicas mais graves.

O tratamento popular da erisipela varia de um local para outro. Por exemplo em Minas Gerais, utiliza-se o banho da folha do Algodão-do-Brejo “*Ipomoea fistulosa*” e o chá da folha da Embaúba “*Cecropia pachystachya*” (VILELLA *et al.*, 2000). Existem outros locais em que a medicina popular vai além de plantas, abrangendo mitos e curiosidades sobre meios de cura. Segundo Campos (1967), no Nordeste, crenças populares sobre a cura surgem e no caso de feridas brabas da erisipela aconselham sobre elas aplicar um sapo aberto ao meio por algum tempo, já no Rio Grande do Sul o Chocalho da cascavel “*crotalusterrificus*”.

Diante de várias informações adquiridas pela pesquisa, o objetivo do trabalho é descrever os tratamentos, contágios, características fisiológicas e outros fatos importantes sobre Erisipela, mostrando aspectos científicos e ao mesmo tempo populares em algumas regiões do estado de Pernambuco.

2 Material e Métodos

Área de estudo: A pesquisa foi realizada em Recife e região metropolitana (Jaboatão) na zona da mata (Tracunhaém) e no agreste setentrional (Orobó).

População e desenho do estudo: Foram entrevistadas cinco pessoas (do sexo feminino), que conheciam a doença. Para saber sobre tratamentos populares da erisipela, foram escolhidas duas benzedadeiras idosas de duas cidades distintas do interior de Pernambuco, e dessa forma buscou-se entender a diferença de curas populares por regiões. Para analisar o método de cura científica da patologia, foram entrevistados profissionais da área médica, uma dermatologista e uma técnica em enfermagem. Também foi entrevistado uma pessoa que tivesse sido contaminada, para saber quais métodos de cura ela utilizou. As Pessoas entrevistadas foram:

- 1º Entrevistado (Benzedeira): Feminino, 78 anos, cidade: Tracunhaém-PE;
- 2º Entrevistado (Benzedeira): Feminino, 81 anos, cidade: Orobó-PE;
- 3º Entrevistado: Feminino, 38 anos, cidade: Tracunhaém-PE;
- 4º Entrevistada (Técnica em Enfermagem): Feminino, 48 anos, cidade: Jaboatão-PE;
- 5º Entrevistado (Dermatologista): Feminino(CRM-PE18450) 31 anos, cidade: Recife-PE;

O roteiro utilizado para a entrevista foram as seguintes perguntas:

- 1-Você conhece a doença Erisipela?
- 2-Você sabe como se pega a doença?
- 3-Como se trata a doença?
- 4-O que você utiliza como medicamento para esta doença?

As respostas foram transcritas da mesma forma que os entrevistados falavam

Esta pesquisa foi realizada sobre supervisão da disciplina Prática de Saúde e Epidemiologia do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na UFRPE. Tomou-se cuidado em não identificar os entrevistados por nome, no entanto as gravações das entrevistas estão sobre custódia da pesquisa, dessa forma não foi solicitado o número de licença da Plataforma Brasil (base nacional unificada de registros de pesquisa envolvendo seres humanos), visto que o número de pessoas envolvidas na pesquisa foi

de pequeno número, o que significa dizer que a mesma poderá ser aprimorada para publicações futuras (maior número de entrevistados com o número de licença).

3 Resultados e Discussões

No total foram entrevistadas cinco pessoas, todas as pessoas disseram conhecer a doença, onde duas destas são profissionais da área de saúde, sendo uma dermatologista e uma técnica de enfermagem com mais de 17 anos de profissão, outras duas são benzedeiras representantes dos conhecimentos populares em relação à doença, e a última já adquiriu a doença.

Na figura 1, ficam claras as diferentes formas de definição dadas por nossos entrevistados em relação ao conhecimento sobre a doença Erisipela. De maneira geral, todos os entrevistados definiram a doença exemplificando suas características e expondo a maioria de seus sintomas. Considerada em sua totalidade como uma infecção na pele. Segundo Souza, (2003) Erisipela é um distinto tipo de celulite cutânea, superficial, com marcante envolvimento de vasos linfáticos da derme. Desta forma é apresentada como uma infecção dos tecidos moles.

Sobre o quesito “Como se pega esta doença?” da figura 1. Sabe-se que infecções cutâneas, frequentemente, surgem em decorrência de ruptura da integridade da epiderme (SOUZA, 2003). No entanto, nota-se que uma das entrevistadas associou a erisipela a um problema de sangue, concluímos que a mesma estava querendo falar sobre genética e por isto quis justificar que não acontece com muitas pessoas. A segunda entrevistada associou muitos elementos ao contágio da doença, mais assim como outras entrevistadas falou sobre uma ferida como causadora. A terceira entrevistada assim como a segunda falou de uma lesão como causadora da erisipela, no caso ela adquiriu a doença desta forma. No entanto, destacou a presença de uma bactéria, mais não entrou em detalhe. Podemos notar que seu conhecimento se aproxima da ideia da medicina popular. No que diz respeito as respostas das profissionais de saúde as mesmas destacaram com mais ênfase no contágio por bactéria, e relacionando-as com alguma porta de entrada. No caso da técnica em enfermagem, uma ferida. A dermatologista acredita que as bactérias geralmente são colonizadas na pele e assim como Caetano e Amorim (2005), acredita que as entradas para elas são trauma local, problema na circulação e dentre outros.

Entrevistados	Questão/Respostas: Você conhece a doença Erisipela?	Questão/Respostas: Como se pega a doença?
1° (Benzedeira):	<i>"Erisipela é uma inchação que dá na perna, incha depois que ela ficavelha ela vai e estora [...]"</i>	<i>Eu acho que é do sangue, por que é difíci vê gente com essa doença, agora tem gente que se levar um arranhão faz.</i>
2° (Benzedeira)	<i>"Você tá com vermelhão, se você num cortar logo, ela vira erisipela. Vira erisipela, agora a gente contando ele, se for na perna a gente corta do joelho pra baixo ... (faço novamente a pergunta)[...]conheço. Conheço a erisipela."</i>	<i>Se você levar uma, um corte, um que for na perna quando começa a ficar vermelho você reze logo, porque se você for reza depoi de tumá, já é erisipela[...] o que mais causa erisipela é o pêlo da lagarta, o corte [...] tem a qualidade da lagarta [...] dentada de maribondo [...]</i>
3° (Indivíduo que já teve a doença)	<i>Sim. É a perna ficando vermelha, doendo, dando febre e inchando [...];</i>	<i>Não sei, mas eu tive uma ferida que através dela que deve ter sido por uma bactéria foi que eu peguei a doença.</i>
4° (Técnica em Enfermagem)	<i>A erisipela que também a conheço como vermelhão é uma doença infecciosa que provoca feridas vermelhas e dolorosas na pele [...];</i>	<i>A doença começa por um incidente pequeno um corte uma ferida se instalando a bactéria.</i>
5° (Dermatologista)	<i>Sim. A erisipela é uma doença muito frequente no nosso ambulatório e também nas emergências de clínica médica. A doença é causada por bactérias, as principais são Staphylococcus aureus e Streptococcus-β hemolíticos do grupo A [...].</i>	<i>Geralmente são bactérias colonizadas na pele e por algum motivo exista uma porta de entrada ou uma arranhadura, um trauma local, ou um problema de circulação e essa bactéria encontra uma oportunidade de penetrar na pele e atingir a corrente sanguínea e provocar inflamação local, e eventualmente infecções graves.</i>

Figura 01: Questionário aos entrevistados

A terceira questão na figura 02 está relacionada quanto a forma de se tratar a doença, as entrevistadas que utilizam o método popular mencionaram que se trata com reza, mas por serem benzedadeiras de locais diferentes, uma citou além da reza também o sapo e o óleo e a outra nos relatou que além da reza utiliza o chá de endro (*Anethum graveolens*). O relato da senhora que já teve essa doença foi que foram usados por ela tanto o método clínico como o popular. Em outros locais como em Minas Gerais, segundo D. Marciana Gomes da cruz "a erisipela se cura rezando com três raminhos". (Depoimento registrado em araraúai-MG em 1978). Clinicamente falando a forma de tratamento da biomedicina para erisipela e através dos antibióticos.

Na erisipela típica, a área de inflamação destaca-se com algum relevo, indicando distinta demarcação entre o tecido envolvido e o normal (SOUZA, 2003). Na análise da figura 02, pode-se avaliar que apesar de ser uma doença que se inicia por um corte ou machucado, se torna uma infecção considerada de leve a grave porte. No ponto de vista das benzedadeiras, a primeira entrevistada relatou que pode até tomar injeção (antibióticos) para aliviar a dor, mas, que o método não é eficaz que a doença poderia retornar e que a única perspicácia seria a reza como cura e o antibiótico como alívio. A segunda entrevistada não relatou nenhum modo clínico como a primeira, havia citado apenas crendices como a reza, o chá de endro (*Anethum graveolens*) e um amarrado com uma fitinha de Santo na perna resolveria. Já a senhora que teve a erisipela relatou que apesar de acreditar no método popular ela também tomava os antibióticos para ajudar no tratamento. Com isso tanto o relato da primeira benzedeira como da que teve a doença são contraditórios, pois não acreditam apenas nas benzeduras e crendices mas, sabendo que se faz necessário o uso de antibióticos advindos do método clínico. Segundo Caetano e Amorim (2004), o tratamento se da através da penicilina que continua a ser o antibiótico de referência embora atualmente diversos fármacos possam

ser utilizados.

Entrevistados	Questão/Respostas: Como se trata a doença?	Questão/Respostas: O que você utiliza como medicamento para esta doença?
1º (Benzedeira)	<i>Se trata com reza, mas não é todo mundo que sabe, é difícil ter uma pessoa pa saber. Essa também passa o sapo, a gente pega o sapo passa em crui nela e depois reza com as palavra que a gente sabe, pede conforto a Deus primeiro que é o que cura tudo e com as palavra que a gente sabe a gente di e reza ou com óleo, mas tem o tipo do óleo, ou com água [...]</i>	<i>Se for o caso se quiser tomar uma ou dua injeção toma. Mas médico não cura, só cura com a reza, a injeção é só pra abrandar as dor, só a injeção pode até curar, mas depois repiti, sara só na hora, depois volta dinovo, só sai com reza, só cura com reza.</i>
2º (Benzedeira)	<i>Essa doença a gente reza gla, o remédio que eu sei que é próprio para usar é o endio (Endro), tumá um chazinho de endio fraquinho, tumá o chá de endio e lavar e passa se for o vermelhão e a erisipela também toma o endio, cum erisipela ... a gente reza e manda tumá endio ... Quando a gente reza e conhece que é erisipela, o jeito que tem é tomar antibiótico porque demora muito e se a gente, num for o vermelhão antes de virá, aí desaparece...</i>	<i>Eu rezo cum cinza, porque se a gente for rezar cum óleo é três dia sem molhar. [...] Uso o endio a reza ... agora se você num tiver, tumado a perna, rudiado a perna entendeu como é? [...] depois que reza pega uma fitazinha do santo que amarra no santo, abre um pedacinho e amarra, vermelha, aí ajuda o vermelho, no instantizim sai [...] manteiga de gado, que é feita da nata da qualhada, se reza cum ela também fica passando [...];</i>
3º (Indivíduo que já teve a doença)	<i>Primeiro eu mandei rezar, passei o sapo de acordo com a reza e depois fui pro médico [...].</i>	<i>Porque quando eu rezava as dores passavam mais e foi onde eu vi resultado com a ajuda também da injeções que o médico passou. É uma experiência horrível [...]</i>
4º (Técnica em Enfermagem)	<i>A doença se trata com antibióticos oral ou intravenoso e repouso com as pernas elevadas também e importante para a melhora.</i>	<i>Com antibióticos como a penicilina, amoxilina, ciprofloxacino entre outros.</i>
5º (Dermatologista)	<i>O tratamento da doença é por meio de antibióticos adequados para cobertura desses germes. Pode ser de acordo com o quadro clínico do paciente, pode ser antibióticos via oral e a depender da situação mais importante que necessite de internamento faz antibiótico venoso ou intramuscular.</i>	<i>Os pacientes que são a nível ambulatorial, ou seja, aqueles casos mais leves, esses pacientes podem ser conduzidos por antibióticos via oral como: Cefalexina, Amoxilina, Amoxilina com Clavulanato, Ampicilina e a depender também da comodidade posológica a gente pode fazer a aplicação da Penicilina Benzatina, que é uma dose única e intramuscular. Se for um paciente que necessita de internamento ou pacientes que realmente tenham infecção mais grave, a gente faz antibiótico venoso. A depender do quadro, a gente pode fazer Ampicilina com Sulbactam ou pode fazer a Clindamicina com Ciprofloxacina. Então vai a depender da situação do paciente ou em que quadro ele se encaixa para ampliar o aspecto da bactéria.</i>

Figura 02: Questionário aos entrevistados

4 Conclusões

Diante das pesquisas levantadas, observou-se que a erisipela é causada quase sempre pelo *Streptococcus* Grupo A (bactéria) e seu contágio está associada a uma porta de entrada pela pele.

O seu diagnóstico clínico é caracterizado por febre, anorexia, calafrios, outros sintomas gerais, além de exames clínicos passados pelo médico. No entanto, nos dados das entrevistas foi notado que popularmente essa doença também está associada ao vermelhidão, que fica sobre a pele depois do contágio com a bactéria.

Na medicina Popular percebeu-se pelas entrevistas que o tratamento da doença varia muito por regiões, além de chás que podem ser utilizados, também nota-se a presença de várias crenças de cura sobre a doença (passar o sapo, óleo, cinza, etc.). Porém, os tratamentos mais eficazes são os antibióticos como foi detalhado pela Médica entrevistada, assim como foi falado pelos outros entrevistados.

Os tratamentos populares, principalmente os chás, ou até crendices podem até amenizarem as dores, como relatado nos dados das entrevistas deste trabalho, mas o meio de cura mais eficiente é o clínico, principalmente em casos em que a doença está avançada é o médico. Neste tratamento, adicionalmente, devem ser instituídas medidas de carácter geral, como observado na entrevista deve-se tratar por meio de antibióticos adequados para cobertura desses germes (a bactéria no caso). Vai depender do quadro clínico do paciente, pode ser antibióticos via oral e a depender da situação mais importante que necessite de internamento faz antibiótico venoso ou intramuscular.

Os pacientes que são a nível ambulatorial, ou seja, aqueles casos mais leves, devem ser conduzidos por antibióticos via oral como :Cefalexina, Amoxilina, Amoxilina com Clavulanato, Ampicilina e a depender também da comodidade posológica a gente pode fazer a aplicação da Penicilina Benzatina, que é uma dose única e intramuscular. Pacientes em casos graves faz a introdução do antibiótico venoso para acelerar o processo de ação da doença.

5 Agradecimentos e apoios

Ao professor Argus Vasconcelos de Almeida pela Orientação da Pesquisa na disciplina Prática de Saúde e Epidemiologia, ministrada no Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

6 Referências

- CAMPOS, E. Medicina Popular do Nordeste. Edições o Cruzeiro, Rio de Janeiro, 3ª edição, p. 56-72, 1967.
- VILELLA, T; ANDRADE, B.S.B de.; MELLO, U; NORD, N.; SILVA, F.A.C; REIS, S. L. A. Plantas Medicinais e Tóxicas, 2007.
- PINTO, J.M. Doenças infecciosas com manifestações dermatológicas, Rio de Janeiro, Editora Médica e Científica LTDA, 1994. P.237 a 240.
- FREITAS, M.V.S.de; FREITAS, M.P.de; SILVA, A.P.A.D; FILHA, M.J.M., FIALHO,A.V.M. CUIDADO DE ENFERMAGEM A PACIENTE PORTADOR DE ERISIPELA: UM CASO CLÍNICO, 61º Congresso Brasileiro de Enfermagem, Transformação Social e Sustentabilidade Ambiental, Fortaleza, Trabalho 1910 – ¼, p.3986- 3989, 2009.
- ALCANTARA C, ALCANTARA VCS. Cicatrização de lesões causadas por erisipela em um paciente diabético, Programa Saúde da Família (PSF) na Regional de Saúde do Recanto das Emas da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, Centro Universitário UNIEURO, Distrito Federal, Com. Ciências Saúde. 2009;20(2):173-184.
- CAETANO, M; AMORIM, I. Erisipela. Serviço de dermatologia. Hospital Geral de Santo Antônio, S. A., Porto, 2005.
- GOMES, N.P.M; PEREIRA, E.A. Assim se benze em Minas Gerais. Juiz de Fora: EDUFJF; Belo Horizonte: *Mazza*, 1989.

SOUZA, C. S. Infecções de tecidos moles: erisipela, celulite. síndromes infecciosas mediadas por toxinas. Simpósio: Urgências e emergências infecciosas, *Medicina*, Ribeirão Preto, 2003.

ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA AÇÃO CARCINOGÊNICA DE *PTERIDIUM AQUILINUM* EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO: REVISÃO DE LITERATURA

Lucilo Bioni da Fonsêca Filho¹, Dayane de Lima Rocha², Tamiris Maria da Silva³, Vitoria Yuki Endo⁴, Joselma da Silva Cavalcanti Bertoldo⁵, Júlio César dos Santos Nascimento⁶

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

2 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

3 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

4 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

5 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

6 Professor em Centro Universitário Maurício de Nassau

Email: lucilofilho@gmail.com

Resumo

Pteridium aquilinum popularmente conhecida como samambaia do campo ou samambaia brava, é tida como uma das plantas tóxicas de maior importância, tanto pela sua ampla distribuição como também pela variedade de efeitos tóxicos que causa em diferentes espécies de animais e até no homem, são plantas invasoras que apresentam resistência as condições ambientais tornando ainda mais fácil a sua disseminação. A intoxicação por samambaia ocorre nas formas aguda ou crônica, e pode variar a depender da idade, da espécie do animal acometido, quantidade de planta ingerida e tempo de ingestão. O presente resumo tem por objetivo avaliar os mecanismos fisiopatológicos da ação carcinogênica causada pelo princípio ativo da planta, capaz de se associar a proteínas e causar alterações nos genes, contribuindo para formação de um tecido cancerígeno.

Palavras chave: dienona, glucosideos, ptaquilosideo, samambaia

1 Introdução

O gênero *Pteridium* engloba um grupo de plantas distribuídas por todos os continentes exceto na Antártida. A espécie *Pteridium aquilinum* mais conhecida como samambaia ou samambaia brava é a representante de maior importância do gênero, se

apresenta como uma espécie cosmopolita e invasora, sendo uma das plantas tóxicas mais importantes do mundo, podendo acarretar problemas para diversas espécies animais e para o homem, dentre os problemas decorrentes do consumo da samambaia, o que apresenta maior relevância é o seu potencial cancerígeno (GUIMARÃES & CARVALHO, 2014).

Embora possa haver contradições com relação a classificação botânica, o pensamento mais aceito é que o gênero *Pteridium* contém apenas uma espécie, a *Pteridium aquilinum* sendo que nesta está presente duas subespécies de importância, a *aquilinum* e *caudatum*. A subespécie *aquilinum* tem maior prevelência no hemisfério Norte e na África e é formada pelas variedades *aquilinum*, *decompositum*, *pubescens*, *feei*, *revolutum*, *africanum*, *pseudocaudatum*. A subespécie *caudatum* é encontrada no hemisfério Sul e é formada pelas variedades *caudatum*, *esculentum*, *arachnoideum*, *yarrabense*. Sendo que no Brasil está presente apenas a variedade *arachnoideum* (SOUZA, 2010).

O efeito carcinogênico da samambaia ocorre devido estar contido em maior parte nas suas folhas, seu princípio ativo, uma substância química da classe dos glucosídeos do grupo dos norsesquiterpenos do tipo iludano conhecido como ptaquilosídeo que presente em soluções de teor alcalino, desenvolve um composto denominado de dienona que apresenta em sua composição um anel de ciclopropil que se abre, ocorrendo um ataque ao átomo de nitrogênio da base adenina do DNA mudando sua estrutura e ocorrendo a sua ruptura e carcinogênese (LATORRE, 2010).

Dentre as características e sinais clínicos da intoxicação por *Pteridium aquilinum* em bovinos, pode-se destacar apatia presente, anorexia, com constantes episódios de diarreia aquosa escura, parada da ruminação, mucosas das narinas podem se apresentam hemorrágicas, úlceras na boca, podendo o animal apresentar hipertermia nas horas que se sucedem. Exames de bioquímica sanguínea podem revelar uma anemia acentuada, leucopenia com desvio a esquerda e trombocitopenia. A morte pode vir a ocorrer no período de tempo entre uma a duas semanas após a exteriorização dos sinais clínicos. Alguns achados de necropsia incluem mucosas e vísceras pálidas, presença de petéquias nas gengivas, sufusões nas mucosas e serosas de cavidades abdominal e torácica (LATORRE, 2010).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar os mecanismos fisiopatológicos da ação carcinogênica causada pelo princípio ativo da planta, uma substância da classe dos glicosídeos conhecido como ptaquilosídeo que em condições alcalinas predispõe a formação de um composto conhecido como dienona, capaz de se associar a proteínas e causar alterações nos genes, contribuindo para formação de um tecido cancerígeno.

2 Fisiopatologia do ptaquilosídeo presente na *Pteridium aquilinum*

Glicosídeos são compostos químicos formados por união de compostos glúcidos e compostos não glúcidos, sendo o ptaquilosídeo um glicosídeo que pode vir a causar efeitos carcinogênicos devido a molécula de DNA apresentar sensibilidade ao composto quando em meio alcalino, sendo variável a composição dos princípios tóxicos a depender da quantidade de planta consumida, do tempo em que a planta foi ingerida e da espécie animal em questão (FRANÇA et al, 2002).

A descoberta do ptaquilosídeo como princípio tóxico ocorreu no ano de 1983, onde cientistas pesquisando com ratos em laboratório conseguiram isolar o glicosídeo. O ptaquilosídeo é um composto sem forma definida, estável a temperatura ambiente, sendo sua decomposição dependente da concentração hidrogeniônica. Em solução alcalina, há o desdobramento da D-glicose e o ptaquilosídeo é transformado em dienona, um composto instável, na presença de água e em solução com baixa acidez, a dienona é convertida em ptaquilosídeo B sendo este composto estável. Pesquisas corroboram em afirmar que a dienona em condições alcalinas constitua a forma ativa de um potente agente cancerígeno capaz de atuar associada quimicamente a uma variedade de proteínas com terminais amino expostos, a atuação se deve a presença do grupo ciclopropil que encontra-se conjugado com um grupo ceto dando ao composto uma maior reatividade (SOUZA, 2010).

3 Achados de necropsia e histopatológico

Anjos et al (2008), em sua pesquisa relata que entre as lesões mais comuns de necropsia estava a presença de petéquias e sufusões múltiplas em tecido subcutâneo com predominância na região abdominal, lateral e ventral. Em relação as mucosas oculares, estas se encontravam pálidas, o sangue se apresentava de consistência aquosa, e havia petéquias na região da vulva e na gengiva além de ulcerações nas narinas. Os linfonodos pré escapulares e mesentéricos apresentavam quantidades de sangue e de coágulos livres na cavidade abdominal. Dentre os achados hematológicos, mais comumente foi relatado neutropenia, anemia normocítica e normocrômica, e trombocitopenia era comum a todos os bovinos. Os achados histopatológicos incluem presença de hemorragia no parênquima e superfície capsular de adrenais, baço, medula e pulmão.

Furlan et al (2014) em seu estudo relata como principais lesões macroscópicas a presença de petéquias, equimoses e sufusões no tecido subcutâneo, em mucosas, nas serosas e em cavidades. Sendo que no tecido subcutâneo havia concentração de hemorragias na região ventral e lateral do tórax e do abdômen, também relata presença de petéquias e palidez na conjuntiva. Os principais achados histopatológicos incluíam presença de hemorragias e aplasia da medula óssea vermelha, no intestino pode-se observar presença de enterite fibrino necrótica e hemorrágica sendo esta caracterizada por atrofia ou ausência de vilosidades intestinais.

Gonçalves et al (2009) descreve um caso onde dois bovinos são intoxicados de forma aguda por samambaia, o primeiro bovino pode-se encontrar uma anemia com severa leucopenia, trombocitopenia e aumento do fibrinogênio, e aplasia da medula foi sugestivo. À necropsia, observou-se órgãos internos pálidos inclusive órgãos do sistema nervoso, hidropericardio, sufusões, fígado apresentando moderada degeneração, petéquias na bexiga e aplasia de medula óssea. O segundo animal apresentou aumento de AST e diminuição da proteína sérica total, feita a urinalise, pode-se constatar proteinúria, sangue oculto e presença de hemácias devido a hemorragia da mucosa vesical, à necropsia foi encontrado presença de hemorragia em camadas serosas de órgãos cavitários como coração, baço e bexiga sendo nesta encontrada hemorragias em sua mucosa, presença de grandes coágulos no lúmen do intestino grosso e delgado também foi um achado.

4 Conclusão

Devido a *Pteridium aquilinum* apresentar em sua composição glucosídeos, em especial o ptaquilosídeo, podendo este causar efeitos cancerígenos em diversas espécies de animais e no homem sendo também um problema de saúde pública, devido a fisiopatogenia do ptaquilosídeo e dienona que pode vir a causar modificações irreversíveis na molécula de DNA, como os sinais clínicos geralmente não são patognomônicos para a enfermidade, o proprietário deve estar sempre atento a manifestações clínicas anormais do animal e buscar fazer exames complementares como a bioquímica sanguínea para análise em laboratório do número de leucócitos e hemácias, devendo ser suspenso imediatamente o fornecimento da planta ao animal para se evitar gastos e perdas desnecessárias.

5 Agradecimentos:

A todos que participaram direta e indiretamente deste trabalho quero manifestar os meus sinceros agradecimentos.

6 Referências:

- ANJOS, B. L. et al. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 28, n. 10, p.501-507, out. 2008.
- FRANÇA, T. N. et al. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pteridium aquilinum* (Polypodiaceae) 1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, S.i., v. 3, n. 22, p.85-96, set. 2002.
- FURLAN, F. H. et al. Intoxicação aguda por *Pteridium arachnoideum* e *Pteridium caudatum* em bovinos e distribuição das plantas em Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, S.i., v. 4, n. 34, p.343-348, abr. 2014.
- GONÇALVES, R. C. et al. Intoxicação aguda por *Pteridium aquilinum* em dois bovinos. **Ciência Animal Brasileira**, 2009.
- GUIMARÃES, R.; CARVALHO, G. D. *Pteridium aquilinum*: Importância para saúde pública. **Pubvet**, Londrina, v. 8, n. 9, p.1-13, maio 2014.
- LaTORRE, A. O. Efeitos imunotóxicos da *Pteridium aquilinum* em células natural killer de camundongos e a reversão destes efeitos com selênio. **Tese de doutorado**, 2010.
- SOUZA, N. S. H.; CARNEIRO, C. M.; SANTOS, R. C. *Pteridium aquilinum*: O QUE SABEMOS E O QUE AINDA FALTA SABER. **Review Article**, Uberlândia, v. 26, n. 5, p.798-808, set. 2010.

ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA SÍNDROME DE CUSHING EM CÃES (REVISÃO DE LITERATURA)

Caroline da Silva Leite¹; Luiza Borba de Almeida Madruga¹; Isabela Gilena Lins dos Santos¹; Marcelo Weinstein Teixeira¹.

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE ¹

mvcarolineleite@gmail.com

Resumo

A Síndrome de Cushing ou hiperadrenocorticismo (HAC) é caracterizada pelo aumento da produção dos hormônios glicocorticoides, que possuem diversas funções importantes no organismo como participação na mobilização de composto e na resposta inflamatória, pela porção cortical da Glândula Adrenal que culmina com uma série de alterações físicas e bioquímicas. É uma das endocrinopatias mais comumente diagnosticadas em cães e pode ocorrer de forma espontânea (ex: neoplasias adrenocorticais) ou de forma iatrogênica com a administração exagerada de glicocorticoides. O trabalho objetivou revisar os aspectos fisiopatológicos envolvidos no conjunto sintomatologia que caracterizam a Síndrome de Cushing ou hiperadrenocorticismo em cães. Foi possível concluir que, no estudo de diferentes endocrinopatias que atingem os cães e os demais animais domésticos, sejam elas de origem espontânea ou acidentais, é importante lembrar a função fisiológica dos hormônios envolvidos que podem gerar danos ao organismo, estando eles sendo produzidos em baixa ou em alta quantidade.

Palavras chave: hiperadrenocorticismo, fisiopatologia, cães

1 Introdução

A Síndrome de Cushing ou hiperadrenocorticismo (HAC) é caracterizada pelo aumento da produção dos hormônios glicocorticoides pela porção cortical da Glândula Adrenal que culmina com uma série de alterações físicas e bioquímicas. É uma das endocrinopatias mais comumente diagnosticadas em cães e pode ocorrer de forma espontânea (ex: neoplasias adrenocorticais) ou de forma iatrogênica com a administração exagerada de glicocorticoides, que são utilizados por sua ação anti-inflamatória (SILVA, 2013; ROSA et al., 2011). A glândula adrenal é dividida em duas áreas principais: cortical e medular. Esta última representa 10 a 20% da glândula e o córtex de 80 a 90%. O córtex da adrenal é dividido em três zonas: glomerulosa, fasciculada e reticular, responsáveis pela produção de glicocorticoides e mineralocorticoides (DUKES, 1993).

Os glicocorticoides são hormônios liberados em horários de maiores atividades dos animais, obedecendo ao ciclo circadiano e auxiliam, principalmente, na resposta à estímulos estressantes (CUNNINGHAM, 2004). O hormônio corticoide vai ter a capacidade de estimular gliconeogênese pelo fígado através da formação de carboidratos a partir de aminoácidos mobilizados de tecidos extra-hepáticos para as células hepáticas. Além disso, esses hormônios causam aumento da resistência a insulina com consequente diminuição da glicose circulante pelos tecidos (CUNNINGHAM, 2004). Com relação ao seu efeito sobre as gorduras, o cortisol estimula a catálise dos lipídios, mobilização dos ácidos graxos dos tecidos adiposos, aumento da sua concentração no plasma e aumento da utilização para conversão em energia (MCDONALD'S, 2003). Segundo Guyton e Hall, (2011); Cunningham, (2004), o cortisol vai ter ainda atuação sobre a resposta inflamatória, para além de sua atuação sobre o metabolismo de compostos, nesse sentido, ele vai ter papel no bloqueio da resposta inflamatória aguda, amenizando a hiperemia, as respostas celulares, a exsudação de líquidos que gera edema, o recrutamento de neutrófilos e macrófagos, a síntese de fibroblastos e a liberação de mediadores químicos, como a histamina e atuação sobre a hematopoese, manutenção da integridade vascular, volume e pressão sanguíneos (HERTRAGE, 2004). Ainda é possível citar o efeito antialérgico dos glicocorticoides pela inibição da atuação de histidina e produção de prostaglandinas, além da inibição da liberação de histamina, segundo Cunningham (2004).

Os sinais clínicos apresentados por, geralmente, por cães com o HAC são abdômen pendular e distendido, alopecia bilateral simétrica, pelo opaco e seco, pele fina, hiperpigmentação, polifagia, poliúria, polidipsia, aumento de peso e dificuldade respiratória (FELDMAN, 1997). O objetivo do presente trabalho é de revisar os aspectos fisiopatológicos envolvidos no conjunto sintomatologia que caracterizam a Síndrome de Cushing ou hiperadrenocorticismismo em cães.

2 Características das Glândulas Adrenais e o Eixo Hipotalâmico-Hipofisário

As glândulas adrenais, são pequenos órgãos situados próximos aos polos craniais dos rins, são altamente vascularizadas e nos mamíferos é possível diferenciar bem as duas porções: cortical e medular. Essas porções possuem funções bem distintas, sendo muitas vezes considerados órgãos diferentes (MCGAVIN E ZACHARY, 2007; JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008). Os hormônios produzidos pela região cortical participam de numerosos processos fisiológicos essenciais, sendo, portanto, esta camada, indispensável à vida.

Os numerosos hormônios produzidos pela camada cortical da adrenal podem ser classificados em: glicocorticoides, mineralocorticoides e hormônios sexuais. A síntese de cortisol é regulada pela ação do hormônio corticotrófico (ACTH) produzido no lobo

anterior da glândula hipofisária. A liberação do ACTH também possui um controle e este é exercido pelo hormônio liberador de corticotrofina (CRH) produzido e liberado pelo hipotálamo. Após estes estímulos, o cortisol atinge altas concentrações plasmáticas rapidamente. A CRH produz um feedback positivo sobre a ACTH; a ACTH produz feedback negativo sobre a CRH e positivo sobre o cortisol; e, por último, o cortisol exerce feedback negativo sobre a CRH e ACTH. A secreção de CRH e de ACTH é normalmente episódica e pulsátil, resultando num nível de cortisol flutuante durante o dia, necessário para que certas reações metabólicas se realizem adequadamente (CUNNINGHAM, 2004).

3 Localização e Funções dos Glicocorticoides

No grupo dos glicocorticoides, o cortisol é produzido na zona que encontra-se sob a zona glomerulosa, a zona fasciculada, que é a porção mais grossa da camada cortical e é constituída por grandes células que formam cordões posicionados desde a zona glomerulosa até a zona reticular. Além dos glicocorticoides, são produzidos androgênios em menor quantidade na zona fasciculada (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008; GALAC et al., 2010). De acordo com Hertrage (2004), no metabolismo dos carboidratos, o corticoide terá um efeito hiperglicemiante a nível hepático, tendo capacidade de estimular a enzimas que participam da gliconeogênese, além disso, à nível periférico, o cortisol estimula diminuição de transportadores celulares para glicose, o que diminui sua utilização e estimula resistência ao hormônio insulina. No metabolismo dos lipídios e proteínas, esse hormônio corticoide vai estimular o catabolismo de lipídeos, liberação de ácidos graxos livres e glicerol na corrente sanguínea e redistribuição da gordura hepática por todo o corpo e estimula a proteólise, aumento de fluxo de aminoácidos para os hepatócitos e estimulação da gliconeogênese. O cortisol interfere em diversas etapas do processo inflamatório, se em doses muito elevadas tem atividade imunossupressora e possui ainda ação sob a hematopoese e auxílio à manutenção da integridade vascular e pressão vascular. Uma pequena parcela de glicocorticoides é produzida na terceira zona ou reticular, sendo por isso considerada uma só unidade funcional, muitas vezes (FELDMAN E NELSON, 2004). Esta zona apresenta-se com a mais fina camada e mais interna em contato direto com a porção medular, formada por células irregulares (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008).

4 Possíveis Causas da Síndrome de Cushing

De acordo com Pöpl (2008), 15 a 20% dos casos espontâneos de HAC são causados por tumores adrenais uni ou bilaterais, malignos ou benignos que causam produção do cortisol em excesso. Os adenomas e carcinomas em cães ocorrem em igual proporção. Tais tumores atuam de forma autônoma, ou seja, a secreção do cortisol não é dependente do estímulo do ACTH, mas seus altos níveis vão provocar diminuição

crônica dos níveis de ACTH pelo efeito do feedback negativo e atrofia da porção cortical das glândulas adrenais (BROWN; GRAVES, 2007). O HAC hipófise-dependente (HHD) pode ser de origem primária quando a alteração é de origem hipofisária e ocorre maior produção do ACTH ou secundária, quando é de origem hipotalâmica e culmina com maior liberação de CRH. Segundo Feldman e Nelson (2004), em 75-80% dos casos de HHD é de origem da hipófise acometida por tumores funcionais. A maior parte desses tumores é diagnosticada como adenomas nas diferentes porções da hipófise e alguns cães já foram diagnosticados com carcinomas funcionais. O HAC iatrogênico ocorre em função da administração excessiva de glicocorticoides, que geralmente são utilizados no controle de reações inflamatórias (HESS, 2010). Uma terapia crônica de glicocorticoides em excesso e descontrolada inibe o CRH hipotalâmico e as concentrações do hormônio ACTH plasmático circulantes, proporcionando uma atrofia adrenocortical bilateral.

5 Aspectos Fisiopatológicos dos Sinais Clínicos Mais Evidentes

De acordo com Nichols et al. (1998), a poliúria e polidipsia (aumento da quantidade de urina excretada e água ingerida, respectivamente) são observadas na maioria dos casos e tal alteração se dá devido os glicocorticoides reduzirem a reabsorção tubular de água através do aumento da filtração glomerular e do fluxo sanguíneo renal, além de acusar inibição do hormônio antidiurético (ADH), responsável por conservar água pelo sistema urinário. O aumento do consumo de alimento além das necessidades fisiológicas ou polifagia pode ocorrer como resultado direto do hiperadrenocorticismismo, devido ao envolvimento do cortisol com o metabolismo de compostos e dessa forma, pode haver uma falha no controle da saciedade por esses fatores não neurais, ou ainda, pelo envolvimento do centro do apetite no hipotálamo por um grande tumor hipofisário (FRASER et al., 1991). De acordo com Feldman (1997), o aspecto penduloso do abdômen também está incluído no grupo de sinais mais evidentes e se dá pela redistribuição do tecido adiposo presente na cavidade abdominal para o tecido hepático (efeito do cortisol), além disso, a bexiga encontra-se cronicamente repleta e dilatada e ocorre depleção muscular pelo aumento do catabolismo de proteínas pelo cortisol. As alterações respiratórias são fatores de risco para os cães com HAC e suas complicações podem causar óbito nesses animais. Essas alterações se dão pelo aumento do depósito de gordura no tórax, perda da musculatura e fraqueza nos músculos envolvidos nos movimentos respiratórios (FELDMAN, 1997). A alta concentração de cortisol promove catabolismo do colágeno presente em tecidos moles e estimula a ligação do íon cálcio a esses tecidos, sendo esta uma das causas da complicação respiratória (BERRY, 2000). No estudo de diferentes endocrinopatias que atingem os cães e os demais animais domésticos, sejam elas de origem espontâneas ou acidentais, é importante lembrar a função fisiológica dos hormônios modulando as diversas atividades presentes no organismo, podendo estes gerar danos sendo

produzidos em reduzida ou elevada quantidades.

6 Referências

- BERRY, C. R. et al. Frequency of pulmonary mineralization and hypoxemia in 21 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 14, n. 2, p. 151-56, 2000.
- BROW, C. G; GRAVES, T. K. Hyperadrenocorticism: treating Dogs. **Compendium**, 132-145. 2007.
- CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. GUANABARA-KOOGAN, Rio de Janeiro, RJ, 3a ed., 2004.
- DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 592-600 p.
- FELDMAN, E. C. Hiperadrenocorticism. Ettinger, S. J.; Feldman, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997.
- FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W.; **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 3 ed. St Louis: Saunders Co, 2004. 252-357 p.
- FRASER, C. M. et al. **Manual Merck de Veterinária: Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. Ed Roca, 7a edição, 1991.
- GALAC, S. et al. Adrenals. Em A. Rijnberk, & H. S. Kooistra (Edits.), **Clinical Endocrinology of Dogs and Cats** (2 ed., pp. 93-154). Hannover: Schlütersche. 2010.
- GUYTON, A; HALL, J. **Textbook of medical physiology** (10 ed.). Philadelphia: W.B. Saunders. 2010.
- HERTRAGE, M. Canine hyperadrenocorticism. E. C. T. Mooney, & M. E. Peterson (Edits.), **BSAVA Manual of Canine and Feline Endocrinology** (3 ed., pp. 159-171). Gloucester: BSAVA. 2004.
- HESS, R.S. Insulin resistance in dogs: The Veterinary Clinics of the North America. **Small animal practice**. Philadelphia, v. 40, p. 309-316, 2010.
- JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica** (11 ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008.
- MCDONALD'S. **Veterinary endocrinology and Reproduction** (5^a ed). Blackwell. USA. 2003.
- MCGAVIN, M.; ZACHARY, J. **Pathologic Basis of Veterinary Disease** (4 ed.). St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier. 2007.
- NICHOLS, R., PETERSON, M. E., MULLER, H. S. Glândulas adrenais. Birchard, S. S., Sherding, R. G. **Clínica de pequenos animais**. Roca: São Paulo, 1998.
- PÖPPL, Á. G. **Apostila de Endocrinologia de Cães e Gatos**, 2008.
- ROSA, V. M. et al. Hiperadrenocorticism em cão. VII Encontro Internacional de Produção Científica. Outubro, 2011.

SILVA, R. F. G. **Estudo de Vinte Casos de Hiperadrenocorticismo no Cão.** Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Lisboa. 2013.

ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DECORRENTES DA INTOXICAÇÃO POR *BRACHIARIA RADICANS* EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO: REVISÃO DE LITERATURA

Dayane de Lima Rocha¹, Lucilo Bioni da Fonseca Filho², Tamiris Maria da Silva³, Lourival Barros de Sousa Brito Pereira⁴, Vitória Yuki Endo⁵, Júlio César dos Santos Nascimento⁶

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

2 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

3 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

4 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

5 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

6 Professor em Centro Universitário Maurício de Nassau

Email: dayanelrocha@hotmail.com

Resumo

Brachiaria radicans conhecida também como Tanner-grass, bico-de-pato, brachiaria do brejo ou brachiaria do banhado, é uma gramínea oriunda da África oriental, tendo sido introduzida no Brasil em meados dos anos 60 junto a outras espécies do gênero *Brachiaria*. A intoxicação por *Brachiaria radicans* pode vir a afetar diferentes espécies como os bovinos com maior frequência, além desta espécie pode vir a afetar também os ovinos, bubalinos e equinos. O princípio tóxico da *Brachiaria radicans* são representados pelos nitratos, um dos mais importantes problemas atribuídos ao consumo exagerado de nitratos é a anemia hemolítica. A presente revisão tem por objetivo abordar os aspectos da intoxicação além da fisiopatogenia do princípio tóxico da planta e os principais achados histopatológicos e de necropsia decorrentes da intoxicação por *Brachiaria radicans* em animais de produção.

Palavras chave: anemia hemolítica, nitratos, planta tóxica

1 Introdução

O gênero *Brachiaria* pertencente a família das gramíneas, é um gênero que teve origem no continente africano e foi exportado para o Brasil em meados dos anos 60. Por ser considerada uma forrageira de excelente qualidade, apresentar resistência a seca e ao

frio e também a pragas das lavouras, ser perene e ter crescimento bem distribuído durante todo o ano, o gênero teve fácil adaptação no Brasil (FONSECA FILHO et al, 2017).

Sendo principalmente encontrada em regiões litorâneas, a *Brachiaria radicans* é uma gramínea presente em todos os estados do Brasil, sendo caracterizada por ser uma planta invasora com rápido desenvolvimento em locais com elevados índices pluviométricos. A intoxicação por *Brachiaria radicans* ocorre devido ao consumo exagerado da planta que contém em sua composição nitratos, estudos relatam que dietas fornecidas no cocho contendo cerca de 50% da planta os animais não chegam a apresentar sinais clínicos, com dieta em 75% alguns animais apresentaram urina avermelhada e com dietas a 100% os animais além de apresentarem urina avermelhada também apresentaram fezes pastosas, mucosas de coloração entre vermelho e marrom, anorexia e cansaço (GAVA et al, 2010).

Um achado frequentemente encontrado em decorrência da intoxicação por *Brachiaria radicans* é a presença da anemia hemolítica, que pode ocorrer devido a presença do metabolismo do nitrato contido na planta, a anemia hemolítica é caracterizada por destruição em massa dos eritrócitos que origina um quadro clínico de hipóxia (TOKARNIA et al, 1997).

Dentre as características e sinais clínicos da intoxicação por *Brachiaria radicans* em bovinos, pode-se destacar inicialmente urina de cor âmbar a vermelho escuro, fezes líquidas, salivação, anorexia. Posteriormente, sinais como frequentes micções, andar cambaleante, diarreia, cansaço, baixa coagulabilidade sanguínea podem ser observados. Dentre os exames laboratoriais pode-se notar hemoglobinúria como achado. Na necropsia pode-se evidenciar com frequência sangue de coloração vermelho a marrom com perda da viscosidade e baixa coagulação (GAVA et al, 2010).

2 Fisiopatogenia dos nitratos

O íon nitrato está presente em altas concentrações em plantas forrageiras e gramíneas principalmente quando estas se encontram em estágio vegetativo, os nitratos são absorvidos do solo através das raízes das plantas e adicionados aos tecidos em forma de aminoácidos. Ao serem absorvidos pelos ruminantes, no seu trato digestivo, sofrem redução a nitritos por ação da microbiota ruminal para a síntese de proteínas e depois à amônia sendo esta eliminada ou pode ser utilizada para atuar no metabolismo das bactérias e protozoários presentes no rúmen. Alguns fatores como a quantidade inicial de nitrato consumida pelo animal, condição da flora bacteriana rumenal ou a dieta cuja a qual o animal está em regime, o processo para redução de nitrito em amônia fica comprometido, o que leva ao acúmulo de nitrito. O nitrito acumulado tende a se concentrar no rúmen, onde pode ser capturado pelos capilares ruminais podendo vir a adentrar na corrente sanguínea, onde pode vir a oxidar a molécula heme da hemoglobina que normalmente seria oxidada do estado ferroso para o férrico. A forma oxidada da hemoglobina, a metehemoglobina não possui a função carreadora de oxigênio, resultando em hipóxia e anóxia tecidual causando um quadro compatível com o da anemia hemolítica no animal (JONCK et al, 2013).

3 Achados de necropsia e histopatológico

Schons (2011) relata que na necropsia de animais intoxicados por *Brachiaria radicans*, pode-se observar sangue com coloração entre o vermelho e o marrom com diminuição da viscosidade, a esclera, a conjuntiva e as serosas apresentam coloração avermelhada e o fígado contendo áreas escurecidas alternando com áreas ictéricas, no histopatológico do fígado, pode-se observar áreas de necrose com coagulação centrolobular e paracentral e os rins demonstram nefrose com presença de cilindros hialinos.

Gava (2010) relata em sua pesquisa a morte natural de três bovinos, ambos foram submetidos a necropsia, onde pode observar sangue de coloração entre o vermelho e o marrom, com viscosidade e coagulação reduzidas, no fígado pode-se observar áreas escuras alternando com áreas amareladas e rins tumefeitos e escuros. No exame microscópico, pode-se encontrar no fígado necrose coagulativa centrolobular e paracentral, rins com nefrose e grande quantidade de gotas hialinas no citoplasma e presença de cilindros hialinos na luz do tubo, relata ainda que no fígado de um dos animais submetidos a necropsia, havia bilestase.

4 Conclusão

Por ser um gênero que apresenta fácil adaptação a climas tropicais e por apresentar características favoráveis para produção como também resistência a climas secos e as pragas da lavoura, a *Brachiaria* cobre uma grande parte do território brasileiro. Como a maioria das plantas tóxicas, deve-se atentar ao consumo restrito somente a planta e a manifestação de sinais clínicos anormais a rotina do animal, no caso da *Brachiaria radicans* a concentração de nitratos pode vir a acarretar uma anemia hemolítica causando diminuição na produção animal e óbitos, o produtor deve buscar maneiras para diagnosticar e diferenciar se a anemia é causada pela planta ou por parasitas comuns aos animais, e evitar o consumo em excesso da mesma.

5 Agradecimentos:

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho quero manifestar os meus sinceros agradecimentos.

6 Referências:

- FONSECA FILHO, L. B. da et al. Intoxicação por ingestão de *Brachiaria decumbens* em bovinos no Brasil e achados patológicos decorrentes: Revisão. **Pubvet**, Londrina, v. 11, n. 6, p.601-606, jun. 2017.
- GAVA, A. et al. Intoxicação espontânea e experimental por *Brachiaria radicans* (tanner-grass) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 30, n. 3, p.255-259, mar. 2010.
- JÖNCK, Fernanda et al. Intoxicação espontânea e experimental por nitrato/nitrito em bovinos alimentados com *Avena sativa* (aveia) e/ou *Lolium spp.* (azevém). **Pesquisa**

Veterinária Brasileira, [s.l.], v. 33, n. 9, p.1062-1070, set. 2013.

SCHONS, S. V. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos na região central de Rondônia.

TOKARNIA, C. H. et al. Anemia hemolítica causada por *Ditaxis desertorum* (Euphorbiaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 17, n. 3-4, p.112-116, jul. 1997.

ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DECORRENTES DA INTOXICAÇÃO POR *CROTALARIA RETUSA* EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO

Lucilo Bioni da Fonsêca Filho¹, Dayane de Lima Rocha², Tamiris Maria da Silva³, Lourival Barros de Sousa Brito Pereira⁴, Joselma da Silva Cavalcanti Bertoldo⁵, Júlio César dos Santos Nascimento⁶

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

2 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

3 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

4 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

5 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

6 Professor em Centro Universitário Maurício de Nassau

Email: lucilofilho@gmail.com

Resumo

Crotalaria retusa popularmente conhecida como guizo-de-cáscavel devido ao som emitido pelas suas sementes no interior do seu fruto seco, considerada como espécie invasora encontrada em plantações e pastagens. O quadro clínico mais comum descrito por bovinos associado a intoxicação por *C. retusa* é caracterizado por fotossensibilização, distúrbios hepáticos, cegueira e incoordenação. Os casos de intoxicação ocorrem devido a falta de alimento disponível e a contaminação da forragem oferecida no cocho por sementes da planta, apresenta como princípio ativo alcaloides pirrolizidínicos, sendo a monocrotalina o de maior relevância, os alcaloides se tornam ativos devido a oxidação que ocorre no fígado sendo esta responsável por formar intermediários reativos pirrólicos, estes sendo os responsáveis pela ligação cruzada com o DNA. O objetivo desse resumo é analisar os aspectos fisiopatológicos que acontecem devido a intoxicação por *Crotalaria retusa* em animais de produção e exemplificar o mecanismo de ação do seu princípio ativo.

Palavras chave: alcaloides pirrolizidínicos, fotossensibilização, hepatotoxicidade, plantas tóxicas

1 Introdução

O gênero *Crotalaria* pertencente a família de leguminosas se apresenta em maior quantidade na África, México, Índia e Brasil. Tem com característica a boa adaptação a climas tropicais e subtropicais. Se caracterizam por serem plantas invasoras, sendo facilmente encontradas em áreas de plantações de grãos e em pastagens. As espécies componentes do gênero *Crotalaria* são plantas com altura entre 50 cm ou arbustos com mais de 3 m, com caules não lenhosos e suas folhas podem ser digitado-trifolioladas, unifolioladas, suas flores tem predominância na cor amarela, possuindo as espécies do gênero *Crotalaria* considerável plasticidade adaptando-se dessa forma a diferentes habitats, sendo geralmente encontradas próximas a rios, morros. No Brasil as espécies do gênero são conhecidas popularmente como “guizo-de-cascavel”, “xique-xique”. (HONÓRIO JUNIOR et al, 2010).

Estima-se que possa existir cerca de seiscentas espécies do gênero *Crotalaria* sendo deste número a maior parte tóxica para animais de diferentes espécies quando consumidas além do limite, dentre as espécies de planta mais relatadas, tem-se a *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria crispata*, *Crotalaria retusa*, *Crotalaria dura* e *Crotalaria globifera*. No Brasil, foram relatadas mais de quarenta espécies, sendo que o consumo destas espécies está ligado a carência de alimentos fornecidos aos animais, deixando-os sem opção além do consumo da planta. Diversos estudos em vários países relataram casos de intoxicação por plantas do gênero *Crotalaria* ligados ao seu princípio ativo conhecido como alcaloides pirrolizidínicos, que pode vir acometer equinos, suínos, bovinos, aves e caprinos. (NOBRE et al, 2004).

Os alcaloides pirrolizidínicos ocorrem naturalmente em cerca de seis mil espécies de plantas de diversos gêneros e famílias, sendo a monocrotalina o alcaloide pirrolizidínico de maior importância encontrado no gênero *Crotalaria*, podendo vir a causar inicialmente efeitos hepatotóxicos, sendo também relatados efeitos pneumotóxicos, nefrotóxicos, cardiotoxicos, teratogênicos, neurológicos e carcinogênicos. São compostos bioativados no fígado devido a ação das enzimas monooxigenases de função mista para os ésteres pirrólicos e para os alcoóis pirrólicos, derivados pirrólicos são agentes alquilantes inibidores das mitoses podendo levar a morte celular, podendo vir a acometer tanto humanos como animais. (LUCENA et al, 2010).

Dentre as características e sinais clínicos da intoxicação por *Crotalaria retusa* em bovinos, pode-se destacar a presença de áreas com fotossensibilização na pele, podendo esta diminuir quando o animal permanecia em local sombreado, podendo o quadro clínico evoluir para cegueira, com presença de intenso prurido na pele e barbeta edemaciada. Nos exames de bioquímica hepática o animal pode vir a apresentar taxa de GGT acima do normal. Na necropsia, pode-se observar fígado rijo, em exames histológicos notar-se-á área de fibrose intensa com invasão de células dos ductos biliares, tenra megalocitose e hepatócitos apresentando notável degeneração. (ASSIS et al, 2010).

2 Fisiopatologia do alcaloide monocrotalina princípio ativo da *Crotalaria retusa*

Alcaloides pirrolizidínicos são compostos químicos contendo em sua formulação nitrogênio em um anel heterocíclico, apresentam caráter básico. Dentre suas características sensoriais, apresenta sabor amargo, são ativos fisiologicamente e

farmacologicamente e atuam como uma defesa natural das plantas contra animais consumidores primários herbívoros. Podem vir a causar danos não reversíveis ao fígado. (HONÓRIO JUNIOR et al, 2010).

Mattocks (1986) descreveu que a hepatotoxicidade dos alcaloides pirrolizidínicos se forma devido à insaturação entre o carbono 1 e 2 que devido a presença de enzimas chamadas de oxidases, originam os pirrois, ocorre a associação destes com grupos nucleofílicos de macromoléculas como as sufridilas, hidroxilas, globulinas, hemoglobulinas, purinas e pirimidinas, tal associação dar origem a ligações cruzadas não reversíveis com o DNA e RNA, ocorrendo dessa forma efeitos citotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos.

O efeito tóxico dos alcaloides pirrolizidínicos ocorre devido a metabolização no sistema hepático e pulmonar enzimático do citocromo P450, cujo o qual irá originar metabólitos ativos a exemplos os pirrois e os dehidroalcaloides, ambos responsáveis por afetar macromoléculas celulares como o DNA e as proteínas, além de formar adutos que podem desencadear uma toxicidade aguda ou crônica. O principal alcaloide produzido pela *Crotalaria retusa* é a monocrotalina sendo esta responsável pelos efeitos nocivos relatados em diferentes espécies animais, principalmente hepatotóxico e pneumotóxico mas também há relatos em que possa ocorrer efeitos nefrotóxicos, cardiotoxico, fetotóxico, neurotóxico, e carcinogênicos.(NASCIMENTO, 2013).

A monocrotalina necessita da bio-ativação em dehidromonocrotalina que irá ocorrer no fígado pelo citocromo P450, sendo esta uma reação bifuncional entre um agente alcalínico que se liga ao DNA celular e proteico *in vivo*, um dos primeiros precursores fotoquimicamente de dehidromonocrotalina é a semi-síntese e a ligação cruzada com o DNA. Esta via redutiva ou oxidativa pode acarretar em uma variedade de efeitos tóxicos em diferentes espécies animais e no homem. (HONÓRIO JÚNIOR et al, 2010).

3 Achados de necropsia e histopatológico

Chaves et al (2016) relata um caso de seis vacas criadas as margens do rio Paraíba, onde havia alguns arbustos de *C. retusa* com características de que foram consumidos pelos animais, sendo que não se observou a presença de outras plantas que pudessem causar fotossensibilização no local. Dentre os sinais clínicos apresentados pelos bovinos, destacam-se a desidratação intensa, com subsequente perda de peso, animal apresentava-se inquieto e com lesões de fotodermatite sendo esta mais visível na região dorsal do animal além dos flancos e do úbere. Necropsiou-se um garrote, onde observaram a consistência do parênquima hepático que apresentava aspecto nodular, além de estar reduzido em volume e com a vesícula biliar distendida. Nos pulmões, pode-se observar alterações como edema e congestão pulmonar com áreas de hepatização. Na análise histológica, pode-se observar fibrose no tecido hepático com proliferação de ductos biliares, megalocitose, necrose e vacuolização de hepatócitos.

Lucena et al (2010) descreve dois surtos de intoxicação aguda em ovinos na região Nordeste, onde os sinais clínicos em ambos os surtos incluíam anorexia, apatia, icterícia, ascite e incoordenação, foi feita a necropsia onde pode-se observar hemorragias na camada serosa de múltiplos órgãos, o fígado se mostrava com acentuação do padrão lobular, hidropericárdio, hidrotórax, ascite, com distensão da vesícula biliar e icterícia. No exame histológico, as lesões apresentavam necrose

centrolobular difusa.

Nobre et al (2004) descreve sinais clínicos em equinos intoxicados por *Crotalaria retusa* caracterizando-se por um quadro clínico de anorexia, atordoamento, mal estado geral do animal, animal irritadiço, bocejos, espamos musculares, incoordenação, animal com a cabeça baixa, animal agressivo, andar a esmo e galope sem rumo. À necropsia, os achados demonstram sinais característicos de uma doença hepática crônica, o fígado apresenta volume aumentado e consistência firme e com aspecto mosqueado, as principais alterações histológicas incluem fibrose, hepatomegalocitose, necrose, vacuolização de hepatócitos, presença de hemorragia e em alguns casos proliferação de ductos biliares. Nos pulmões pode-se encontrar alveolite fibrosante difusa, com septos interalveolares aumentados, presença de edema e infiltrado mononuclear e com mais frequência a presença de macrófagos espumosos.

4 Conclusão

Devido a *Crotalaria retusa* apresentar em sua composição alcaloides pirrolizínicos, em especial a monocrotalina, podendo estes causar efeitos tóxicos originando ligações cruzadas não reversíveis com o DNA e RNA, causando efeitos citotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos nos animais submetidos a dietas com alto teor da planta, como os sinais clínicos geralmente não são patognomônicos para a intoxicação, o proprietário deve estar sempre atento a manifestações clínicas anormais do animal e buscar fazer exames complementares para se ter o diagnóstico definitivo e poder tratar o animal da melhor forma, evitando assim maiores perdas.

5 Agradecimentos:

A todos que de alguma maneira me ajudaram com o presente trabalho fica registrado aqui o meu breve obrigado.

6 Referências:

ASSIS, TALES S. et al. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Patos, p.13-20, 2010.

CHAVES, H.A.S. Fotossensibilização hepatógena associada à intoxicação espontânea por *Crotalaria retusa* em bovinos no Agreste da Paraíba. **XI Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário**, p.212-213, 2016.

HONÓRIO JÚNIOR, JOSÉ E. R. et al. Atividade farmacológica da monocrotalina isolada de plantas do gênero *Crotalaria*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p.453-458, 2010.

LUCENA, RICARDO B. et al. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p.447-452, 2010.

MATTOCKS, A.R. Toxicology of pyrrolizidine alkaloids in animal. In: Mattocks A R . Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids. **New York: Academic Press**, p. 191-219. 1986.

NASCIMENTO, R.P. Investigação de novos alvos moleculares e metabolismo da monocrotalina extraída da Crotalaria retusa em células glia. **Dissertação de mestrado**, 2013.

NOBRE, V. M. T. et al. Intoxicação por Crotalaria retusa (Fabaceae) em Eqüídeos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p.132-143, 2004.

ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DECORRENTES DA INTOXICAÇÃO POR *PROSOPIS JULIFLORA* EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO

Gabriela de Paiva Sousa¹, Lucilo Bioni da Fonseca Filho², Tamiris Maria da Silva³, Lourival Barros de Sousa Brito Pereira⁴, Dayane de Lima Rocha⁵, Júlio César dos Santos Nascimento⁶

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Mauricio de Nassau

2 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

3 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

4 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Mauricio de Nassau

5 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Mauricio de Nassau

6 Professor em Centro Universitário Maurício de Nassau

Email: gabipaiva12@hotmail.com

Resumo

Prosopis juliflora popularmente conhecida como pé-de-algaroba, ou algarobeira é uma planta invasora que foi introduzida no nordeste brasileiro no ano de 1940, se adaptando bem a realidade da localidade devido a planta não demandar muita água para seu desenvolvimento. É usada principalmente para a alimentação dos animais, mas também é comum encontrar doces para consumo humano feitos a base da planta. O quadro clínico mais comum relatado pelo consumo de vagens de algaroba é conhecido como mal da cara torta, devido a atrofia de músculos mastigatórios, devido a intoxicação do princípio ativo, os alcaloides piperidínicos. Dentre os achados clínicos da intoxicação por algaroba, é comum citar desde emagrecimento devido a atrofia de músculos mastigatórios até a degeneração de neurônios. O resumo tem por objetivo explicar sobre os aspectos fisiopatológicos decorrentes da intoxicação por algaroba em animais de produção, descrevendo seus sinais mais comuns e achados de necropsia

Palavras chave: alcaloides piperidínicos, cara torta, masseter, nordeste, semi-árido

1 Introdução

Prosopis juliflora é uma espécie de planta de origem no continente Africano trazida

ao Brasil em meados da década de 40, de porte arbustivo a arboreo, possui folhas bipinadas, se adaptou muito bem ao estado de Pernambuco e ao Nordeste brasileiro devido a sua baixa exigência hídrica, é usada principalmente para alimentar animais tanto na forma de concentrado como natural e também para se fazer doces, pães e demais iguarias para o consumo humano devido ao seu alto teor de sacarose (Da Silva, 2012).

Estima-se que possa existir cerca de quarenta e quatro espécies do gênero *Prosopis*, sendo a de maior importância para o Brasil a variedade *Juliflora* vr., podem ser classificadas pelo porte em árvores e arbustos, podendo ser encontrado com frequência no semi-árido brasileiro além de regiões tropicais e subtropicais dos continentes Americano, Ásia e África. Os frutos da algaroba são em forma de vagens e por conter elevado teor de sacarose, se torna mais palatável para os animais que a consomem, tendo em vista que a seca do semi-árido inviabiliza plantações que dependam de muita água para se manter, ficando os animais sem muita opção de consumo (Ribaski et al, 2009).

Por ser muito consumida por animais, principalmente por ovinos e bovinos, há relatos na literatura de casos de intoxicação por consumo da vagem da algaroba, dentre os sinais clínicos mais comuns, pode-se citar disfunção de nervos cranianos, protrusão da língua, desvio de cabeça, atrofia e degeneração do masseter, fazendo que o animal apresente dificuldade para digerir o alimento, gerando perda de peso no animal, sinais como salivação em excesso, barulho característico do fringir de dentes entre outros (Assis et al, 2010).

O princípio ativo da *Prosopis juliflora* são os alcaloides, de forma geral, alcaloides são compostos que apresentam caráter básico que em sua maioria são principalmente derivados de plantas, em sua fórmula química contém átomos de nitrogênio, carbono, oxigênio e hidrogênio. Além dos alcaloides, estudos relatam que na algaroba contém outras substâncias de potencial ativo, são elas os esteroides, flavonoides, o ácido esteárico, proteínas do pólen que possui ação alergênica. O alcaloide presente na algaroba é conhecido como alcaloide piperidinico, contendo em sua fórmula química dois anéis piperidínicos ligados a uma parte indolizidinica por intermédio de duas cadeias alifáticas (Moraes, 2015).

2 Fisiopatologia dos alcaloides piperidínicos presentes na *Prosopis juliflora*

Alcaloides piperidinico são compostos químicos contendo em sua formulação nitrogênio, carbono, oxigênio e hidrogênio e apresentam caráter básico sendo o grau de basicidade dependente da molécula de alcaloide e também da presença ou não de grupos funcionais e apresentam ampla diversidade estrutural. Dentre suas características sensoriais, apresenta sabor amargo, são ativos fisiologicamente e farmacologicamente e atuam como uma defesa natural das plantas contra animais consumidores primários herbívoros (Rosset, 2015).

Rosset (2015) descreve em seu estudo consequências do consumo de altos níveis alcaloides piperidínicos em gados adultos que podem levar a toxicidade aguda podendo

apresentar manifestações clínicas como ataxia, colapso, taquicardia, fraqueza muscular, micção constante, perda do controle da defecação podendo chegar o animal a óbito devido a falha respiratória.

Moraes (2015) descreve que alcaloides piperidínicos encontrados em folhas e nas vagens da algaroba agem diretamente no sistema nervoso, mais precisamente nas células da glia, acarretando efeitos tóxicos, as células da glia tem a função de promover o impulso nervoso, atuar na transmissão das sinapses e processar informações, com o consumo elevado dos alcaloides piperidínicos estas funções ficam inviáveis, a lesão característica conhecida como cara torta tem ligação direta com as funções nervosas comprometidas. Os sinais clínicos nervosos associados ao consumo de algaroba incluem, disfunção de nervos cranianos podendo incluir o nervo trigêmeo, hipoglosso, vago e o glossofaríngeo e também atrofia e degeneração muscular do músculo masseter acarretando em dificuldade de apreensão e mastigação dos alimentos.

3 Achados de necropsia e histopatológico

Camara et al (2009) relata como achados de necropsia de uma intoxicação espontânea de algaroba, dentre os principais achados, tem-se a diminuição de volume e coloração amarronzada dos masseteres e severa diminuição das fibras, ausência de pânículo adiposo, uma hipotrofia de gordura visceral, no rumen pode-se encontrar a presença de vagens de algaroba, há também presença de hemorragias petequiais subpericardicas. No histológico pode-se observar degeneração do núcleo motor do nervo trigêmeo.

Lopes et al (2014) relata achados da necropsia de dois caprinos e dois bovinos, onde em um dos caprinos pode-se observar atrofia dos masseteres além de cor pálida, no rumen e retículo havia considerável quantidade de vagens de algaroba. Em um dos bovinos, os achados incluíam escoriações cutâneas, rumen com grande quantidade de vagens de algaroba, e músculos masseteres também diminuídos e pálidos.

Medeiros et al (2012) em seu experimento, para determinar até onde vai a dose tóxica, confinou dois bovinos com dieta de vagens de algaroba com proporção de 30% do total da matéria seca ingerida durante doze meses sendo os animais pesados a cada mês, após os doze meses os animais foram abatidos, coletou-se encefalo, medula espinhal e músculos masseteres, ambos colocados em formol a 10%, não achando anormalidades nem no sistema nervoso ou no músculos masseteres. O animal 1 no início pesava 132kg chegou a pesar 381 kg ao final do experimento, o animal dois pesava no início 116 kg e no final chegou a pesar 333 kg, ficando relatado assim a facilidade de engorda que os animais são submetidos pelo consumo de vagens de algaroba.

4 Conclusão

Devido a *Prosopis juliflora* apresentar ampla distribuição em áreas secas onde a variedade de consumo de plantas para os animais é reduzida, uma das soluções que os produtores encontram é fornecer vagens de algaroba para seus animais muitas vezes acima do permitido, podendo causar enfermidades como a doença da cara torta,

deixando o animal inviável para a produção, não tendo outra solução a não ser o sacrifício. Na pior das hipóteses, o consumo de vagens de algaroba deve ser fornecido aos animais combinando-a com outra forrageira, evitando uma dieta 100% a base de algaroba somente, o que vem a evitar prejuízos desnecessários aos pequenos produtores do semi-árido.

5 Agradecimentos:

A todos que de alguma maneira me ajudaram com o presente trabalho fica registrado aqui o meu breve obrigado.

6 Referências:

ASSIS, T. S. et al. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Patos, v. 1, n. 30, p.13-20, jan. 2010.

CÂMARA, A. C. L. et al. Intoxicação espontânea por vagens de *Prosopis juliflora* (Leg. Mimosoideae) em bovinos no Estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 29, n. 3, p.233-240, mar. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2009000300008>

DA SILVA, V. D. A. Caracterização através de métodos bioquímicos e biofísicos de danos mitocondriais e vacuolização autofágica induzidos por alcaloides da *Prosopis juliflora* em células do sistema nervoso central. **Tese de doutorado**. 2012.

Lopes, A.C. et al. Intoxicação por *Prosopis juliflora* em ruminantes no estado da Bahia: Novos aspectos em surtos espontâneos, **Endivet**, 2014.

MEDEIROS, M. A. et al. Utilização de vagens de *Prosopis juliflora* na alimentação de bovinos e equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 32, n. 10, p.1014-1016, out. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2012001000012>.

MORAES, G. S. O. Farelo de vagem de algaroba em substituição ao milho em rações para bovinos machos de origem leiteira. **Dissertação**. 2015.

RIBASKI, J. et al. Algaroba (*Prosopis juliflora*): Árvore de Uso Múltiplo para a Região Semiárida Brasileira. **Comunicado Técnico 240**, Colombo, p.1-8, out. 2009.

ROSSET, I. G. Diazocetonas alfa, beta insaturadas como reagentes multifuncionais: Aplicação na síntese de alcaloides piperidínicos e pirrolidínicos. **Tese doutorado**. 2015.

ASPECTOS HISTOLÓGICOS DAS ALTERAÇÕES RENAIS DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR *LEISHMANIA INFANTUM*

Ana Cristina Costa de Sousa¹, Mirelly Santos de Lima¹, Lourival Barros de Sousa Brito Pereira¹, Thiago Felix Bezerra¹, Filipe Fernandes de Moraes¹, Vinícius Vasconcelos Gomes de Oliveira^{1,2}

¹ Centro Universitário Maurício de Nassau - UNINASSAU

² Centro Acadêmico de Vitória – UFPE
aninha1_costa@hotmail.com

Resumo

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença crônica grave de distribuição mundial causada pelo protozoário *Leishmania (Leishmania) infantum*. No Brasil, o principal vetor é o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, responsável por abrigar a forma promastigota infectante. O cão, por sua proximidade com o homem, é considerado o principal reservatório para a doença. Vários órgãos e sistemas podem ser afetados, incluindo o sistema urinário, sendo muitas vezes insuficiência renal a principal causa de morte em cães com LV. Desta forma, objetiva-se com esta revisão discorrer sobre as alterações estruturais renais de cães naturalmente infectados por *L. Infantum*.

Palavras chave: cão, leishmaniose, rins, histologia.

1 Introdução

Atualmente, na rotina da clínica médica veterinária tem aumentado muito a incidência de casos de Leishmaniose Visceral (LV) e muitos destes com sinais clínicos de insuficiência renal. A doença é causada pelo protozoário do gênero *Leishmania*, sendo considerada uma zoonose que ocorre em diversas partes do mundo, sendo relatada em mais de 98 países (SILVA J. 2015). A doença acomete o homem bem como outras espécies de mamíferos como os cães, gatos, canídeos silvestres, marsupiais e roedores. Porém, o cão pelo seu contato mais próximo ao homem, tornou-se o principal reservatório e fonte de infecção e transmissão desta importante doença para o homem (DIAS 2008; BARROS 2011; SILVA J. 2015).

A transmissão entre hospedeiros vertebrados ocorre primariamente por meio vetorial através do flebotomíneo do gênero *Lutzomyia*, sendo encontradas no Brasil as espécies *L. longipalpis* e o *L. cruzi*. As fêmeas, ao realizar o repasto sanguíneo veiculam as formas promastigotas do parasito de animais infectados para animais suscetíveis e, eventualmente, para o homem. Este vetor é popularmente conhecido como mosquito-palha, tambaqui, birigui ou cangalhinha a depender da região (OLIVEIRA 2009; SILVA J. 2015). A forma amastigota é encontrada no hospedeiro vertebrado, sendo

parasitos intracelulares obrigatórios de células do sistema fagocitário mononuclear (SFM), notadamente macrófagos (SILVA J. 2015) (Figura 01).

Os sinais clínicos mais comumente observados nos cães são: linfadenomegalia, emaciação, neuralgia, poliartrite, polimiosite, insuficiência renal, poliúria, polidipsia, vômitos, convulsões, hepato-esplenomegalia, febre, epistaxe, uveíte, emagrecimento, apatia, diarreia. Além de sinais clínicos cutâneos como onicogribose, dermatite seca, alopecia, hiperqueratose, úlceras (CARVALHO 2009; SILVA J. 2015).

Os órgãos ricos em células do SFM são os mais densamente parasitados, tais como a medula óssea, baço, fígado e linfonodos, embora macrófagos infectados ocasionais possam ser encontrados em todos os tecidos incluindo sangue, pele, pulmões, rins, testículos, meninges e outros (SILVA F. 2007).

Desta forma, considerando a importância do parasitismo que ocorre nos rins e sua repercussão em níveis sistêmicos, esta revisão tem por objetivo abordar as principais alterações estruturais nos rins de cães naturalmente infectados por *L. infantum*.

2 Lesões renais na LV em cães

De modo geral, na pele, fígado e rins, as alterações estruturais caracterizam-se por infiltrado linfoplasmocitário acentuado associado à presença de macrófagos parasitados (LIMA et. al., 2015).

Segundo VERÇOSA (2015), o tipo de infiltrado inflamatório reflete o perfil da resposta imunológica contra o parasito e o grau de suscetibilidade dos animais à doença. O infiltrado inflamatório de hospedeiros resistentes é constituído por linfócitos, plasmócitos e macrófagos e poucos parasitos (Figuras 02 e 03).

Inicialmente ocorrem alterações nos túbulos renais, levando à degeneração hidrópica e hialina, atrofia ou dilatação tubular com presença de cilindros hialinos (Figura 04), espessamento dos folhetos parietal e visceral da cápsula de Bowman, calcificação e necrose que progridem de acordo com o avanço da doença (DIAS, 2008; SILVA J. 2015).

O glomérulo, com sofisticado sistema de filtração é o principal alvo das injúrias imunológicas, entretanto seu mecanismo é pouco esclarecido. De grande importância é a observação de que complexos imunes são formados por anticorpos e antígenos do parasito (SOARES, 2007).

As lesões ocorridas nos rins decorrentes da inflamação e da degeneração culminam em diversos níveis de alterações como a degeneração tubular multifocal leve, nefrite intersticial mononuclear em graus variados, glomerulonefrite membranosa, fibrose intersticial e periglomerular (GOMES et. al., 2008; TORRES et. al., 2013). Essa glomerulonefrite membranosa é caracterizada por acentuado espessamento e duplicação da membrana basal dos capilares glomerulares (DIAS, 2008). Em cães sem evidência clínico-patológica de doença renal, a avaliação histopatológica geralmente revela lesões mesangioproliferativas e glomerulonefrite de alterações mínimas (ALVES et. al., 2013).

As características dessas lesões inflamatórias não são influenciadas pela ordem inflamatória e nem pela quantidade de parasitos, mesmo em cães com diferentes classificações clínicas (TORRES et. al., 2013).

A maioria dos estudos sobre as alterações renais ressaltavam a possível ocorrência de insuficiência renal, que é muitas vezes, a principal causa de morte em cães com leishmaniose (SILVA F. 2007; ALBUQUERQUE et. al., 2008; SILVA A. 2009; ALVES et. al., 2013; SANTOS et. al., 2013).

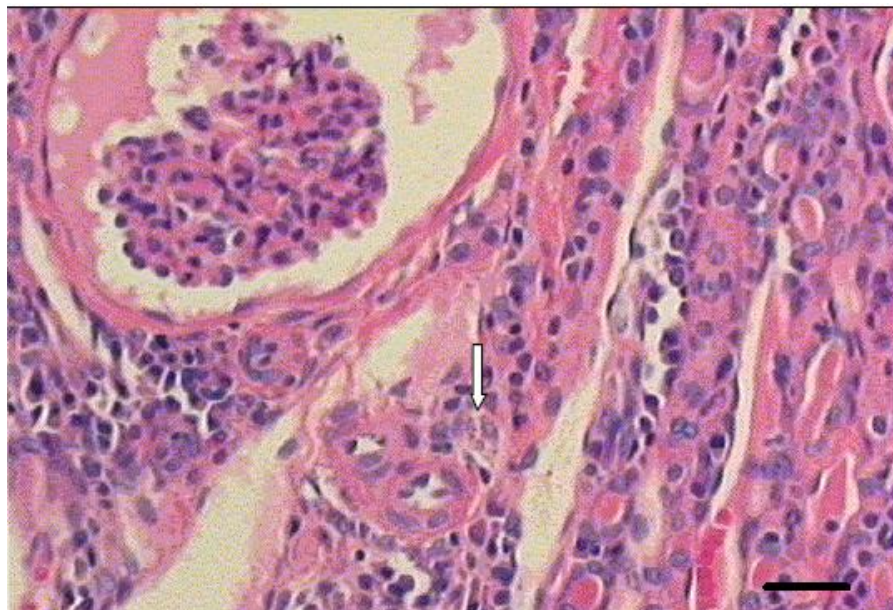
Na microscopia pode-se identificar a deposição de material amiloide através da visualização de material amorfo, acelular, de aspecto vítreo, geralmente eosinofílico e que se cora em rosa no vermelho congo (GOMES et. al., 2008; SILVA J. 2015).

Segundo TORRES et. al., (2013) DNA de *Leishmania* pode ser encontrado na urina de cães com insuficiência renal, evidenciando a presença do parasito no trato urinário de cães clinicamente doentes. Além de que, os cães com sintomatologia mais severa produzem anticorpos específicos que podem ser facilmente detectados, indicando uma relação entre a carga parasitária e a manifestação clínica. Entretanto, quando comparadas às cargas parasitárias dos rins entre cães sintomáticos e oligossintomáticos, não existe diferença.

3 Considerações finais

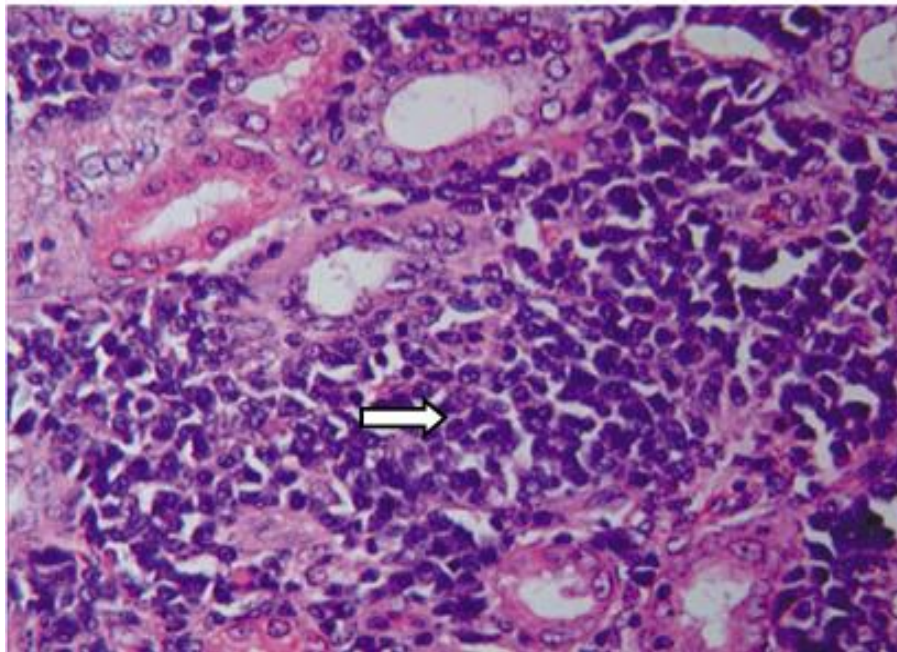
L. infantum induz alterações renais em cães e este é um fator considerável na compreensão dos mecanismos patogênicos da doença. Estas lesões são caracterizadas histologicamente pela presença de infiltrado inflamatório mononuclear intersticial e pela deposição de imunocomplexos no parênquima renal. Tais alterações podem progredir com o tempo de infecção sendo capazes de comprometer o parênquima renal a ponto de provocar perda da função do órgão.

Figura 1: Lesão renal em cão soropositivo para LV sintomático. Macrófagos com formas amastigotas de *Leishmania* (seta). Hematoxilina e Eosina. Barra: 12,5mm



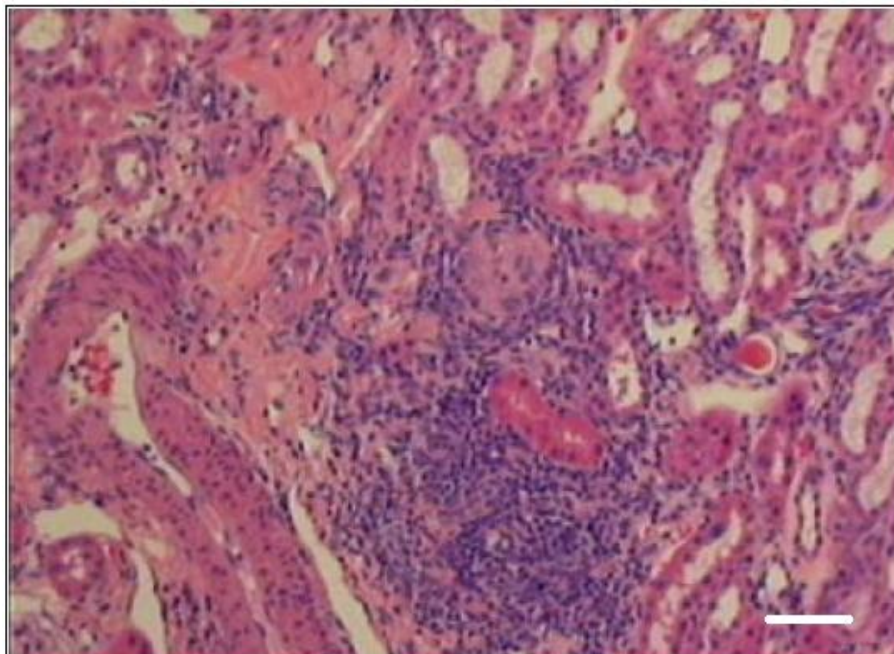
Fonte: SOARES, 2003.

Figura 2: Rim. Cão infectado naturalmente pela *L.infantum*. Infiltrado inflamatório intersticial de células mononucleadas a região intertubular, de intensidade severa (seta). Hematoxilina e Eosina. 140 x.



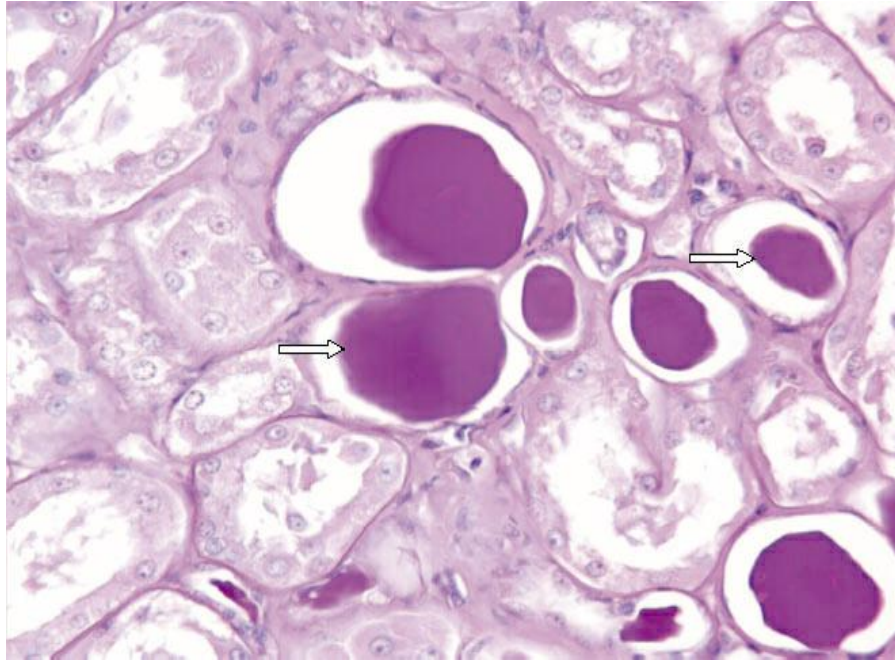
Fonte: GOMES et. al., 2008.

Figura 3: Lesão renal em cão soropositivo para L.V sintomático. Infiltrado inflamatório mononuclear. Hematoxilina e Eosina. Barra: 50mm



Fonte: SOARES, 2003.

Figura 4: Rim. Cão infectado naturalmente pela *L. infantum*. Presença de cilindros hialinos (setas) em túbulos renais. Ácido Periódico de Schiff. 140 x.



Fonte: GOMES et. al., 2008.

4 Referências

- ALBUQUERQUE B.C.N.C. et. al. **Alterações estruturais em rins de caninos naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi***. R. bras. Ci. Vet., v. 15, n. 1, p. 3-5, 2008.
- ALVES, G.B.B et. al. **The sero-conversion and evaluation of renal alterations in dogs infected by *Leishmania (Infantum) chagasi***. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 55(2): 105-12, 2013.
- BARROS, R.M. **Caracterização histopatológica da leishmaniose visceral canina no Distrito Federal**. Dissertação de Mestrado em Saúde Animal da Universidade de Brasília - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.
- CARVALHO J.K.M.R. **Leishmaniose visceral canina: aspectos clínicos e diagnóstico**. Programa Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS– MS, 2009.
- DIAS C.A. **Estudo das alterações clínico-laboratoriais e histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral naturalmente infectados no Distrito Federal**. Dissertação de Mestrado em Saúde Animal da Universidade de Brasília - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008.
- GOMES L.A. et. al. **Lesões renais intersticiais e tubulares na leishmaniose visceral**. Revista Portuguesa de Ciências Veterinária - RPCV - 103 (567-568) 157-163, 2008.

LIMA A.M.V. et. al. **Imunomarcção de *leishmania* sp. e aspectos histológicos na terceira pálpebra de cães naturalmente infectados por *Leishmania (leishmania) chagasi***. Cienc. anim. bras., Goiânia, v.16, n.4, p. 538-547, 2015.

OLIVEIRA E. **Parasitismo e alterações histológicas em hamsters infectados com tecido medular de pacientes portadores de leishmaniose visceral**. Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul– UFMS–MS, 2009.

SANTOS J. P. et. al. **Histological changes and immunolabeling of *Leishmania infantum* in kidneys and urinary bladder of dogs**. Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 420-423, 2013. Disponível em www.cbpv.com.br/rbpv.

SILVA F.K.A. **Leishmaniose visceral canina**. Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido– UFERSA, 2009.

SILVA F. S. **Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina**. Revista Tropic – Ciências Agrárias e Biológicas V.1, n. 1, p. 20, 2007.

SILVA J.L. **Avaliação dos parâmetros bioquímicos séricos, alterações estruturais, imunomarcção e carga parasitária em órgãos do sistema urinário de cães com infecção natural por *Leishmania (leishmania) infantum***. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical – UFRPE – Recife – PE, 2015.

SOARES M.J.V. **Leishmaniose visceral canina: aspectos clínico-laboratoriais, histopatologia renal e testes específicos para diagnóstico**. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal – SP, 2003.

SOARES M.J.V. **Seqüenciamento de DNA e imunoistoquímica renal para detecção de *leishmania* sp em cães**. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal – SP, 2007.

TORRES et. al. **Associação da carga parasitária renal com achados laboratoriais em cães com leishmaniose visceral**. Ciência Rural, Santa Maria, v.43, n.5, p.894-896, 2013.

VERÇOSA B.L.A. **Resposta inflamatória, apoptose e fibrose renal na leishmaniose visceral canina: estudo histomorfométrico e molecular**. Departamento de Morfologia, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – MG, 2015.

ASPECTOS HISTOLÓGICOS DO PÊNFIGO FOLIÁCEO EM CÃES

Mirelly Santos de Lima¹, Ana Cristina Costa de Sousa¹, Anny Karoliny dos Santos Vasoncelos¹, Thiago Félix Bezerra¹, Edvaldo Vitório Araújo Ferreira Silva¹, Vinicius Vasconcelos Gomes de Oliveira^{1,2}

¹ Centro Universitário Maurício de Nassau – UNINASSAU

² Centro Acadêmico de Vitória – UFPE

mirellylima@live.com

Resumo

O pênfigo foliáceo é caracterizado pela deposição de anticorpos nas membranas dos queratinócitos, sendo estes autoanticorpos, imunoglobulinas G. Os animais afetados são cães e gatos, mas há relatos de casos em equinos e caprinos. A ligação dos autoanticorpos ao antígeno leva à ocorrência de acantólise, perda da coesão entre as células epidérmicas com subsequente desprendimento, levando à formação de pústulas subcorneais. Esta enfermidade enquadra-se nas dermatopatias inflamatórias que formam pústulas intraepidérmicas neutrofílicas e eosinofílicas. Provoca calor, rubor e edema manifestando-se principalmente por bolhas, pústulas, vesículas e esfoliação, causando pruridos, ardência e desconforto. O diagnóstico baseia-se na anamnese, exame físico, esfregaços diretos das lesões, citologia das pústulas, testes de imunofluorescência ou imunohistoquímica e histopatologia, sendo este último o de eleição. Então, observando a importância desta dermatopatia na rotina dermatológica, objetiva-se com essa revisão discorrer sobre os principais aspectos histológicos do pênfigo foliáceo em cães e sua importância no diagnóstico da doença.

Palavras chave: queratinócitos, dermatologia, doença autoimune, histologia.

1 Introdução

O complexo pênfigo abrange o pênfigo vulgar, a segunda forma mais rara de pênfigo em cães; o pênfigo vegetante, considerado extremamente raro; o pênfigo foliáceo e o pênfigo eritematoso, que representa uma forma benigna do último. O pênfigo foliáceo é a forma mais comum de pênfigo e provavelmente a doença autoimune mais frequente na rotina dermatológica, acometendo diversas espécies, mas sendo mais comum em cães (FERNANDES, 2009).

Esta enfermidade acomete em maior número animais de meiaidade a senil, com predisposição para as raças Akita, Bearded Collie, Chow Chow, Dachshund, Doberman e Terra Nova. A pré disposição genética parece ser fator importante no desenvolvimento da autoimunidade, fato este que explicaria a maior incidência em determinadas raças. Outros fatores associados são as infecções virais, medicamentos, imunógenos e condições inflamatórias de curso crônico, principalmente as dermatopatias alérgicas (BARBOSA, 2012).

No pênfigo foliáceo, há o desenvolvimento de auto anticorpos, tipicamente IgG, contra componentes dos desmossomos e das moléculas glicoproteicas de superfície dos queratinócitos da pele. Quando estes anticorpos se ligam aos antígenos intercelulares, as células epidérmicas internalizam o complexo antígeno-anticorpo, o que faz com que os queratinócitos afetados sintetizem e secretem o ativador do plasminogênio. Essa ativação leva à destruição dos desmossomos, ocorrendo perda de coesão entre as células epidérmicas (acantólise), que resulta em fissuras, vesículas e bolhas intraepidérmicas (MACÊDO, 2008).

Desta forma, observando a importância desta dermatopatia na rotina dermatológica, objetiva-se com essa revisão discorrer sobre os principais aspectos histológicos do pênfigo foliáceo em cães e sua importância no diagnóstico da doença.

2 Sinais clínicos

Cães com pênfigo foliáceo apresentam lesões pustulares bastante efêmeras, sendo estas lesões primárias raramente visualizadas. Na maioria dos animais o que se pode observar são lesões secundárias como pápulas e crostas (Figura 3) (FERNANDES, 2009).

As lesões iniciam-se na face, plano nasal, narina, periocular e pino e depois podem se generalizar. Lesões muito recentes consistem de máculas eritematosas que rapidamente progridem para a fase pustular e crostas. Os pés, coxins e virilha são frequentemente afetados; a hiperqueratose de região plantar é comum e pode ser o único sinal em alguns cães. Simultaneamente aos sinais dermatológicos, alguns cães poderão apresentar linfadenopatia, febre, dor, prurido, anorexia, depressão (BALDA, 2008).

3 Aspectos histológicos

A epiderme é composta por queratinócitos firmemente unidos por estruturas de adesão que mantém a ligação entre as células e destas com a membrana basal (WENER, 2002). O pênfigo foliáceo afeta a epiderme e ocorre quando autoanticorpos são direcionados aos desmossomos promovendo sua ruptura com consequente separação dos queratinócitos, resultando em acantólise (ALVES, 2014).

Esta enfermidade enquadra-se nas dermatopatias inflamatórias que formam vesículas e/ou pústulas intraepidérmicas neutrofílicas e eosinofílicas, sendo classificada como dermatite intraepidermal vesicular subcorneana (Figura 1) (WENER, 2002).

As células acantolíticas são células da camada espinhosa que perderam suas pontes de adesão, assumem uma forma esférica e são encontradas livres dentro da vesícula ou da pústula epidérmica. O citoplasma destes queratinócitos esferóides tipicamente torna-se mais eosinofílico que os normais, mas essas células continuam viáveis (BALDA, 2008; MACÊDO, 2008).

O tipo de infiltrado celular nestas doenças depende de quimiocinas específicas, receptores de quimiocinas e moléculas de adesão. Portanto, os fatores que afetam a localização e a ativação de eosinófilos influenciam a aparência da lesão nessa condição. Os eosinófilos são recrutados para os tecidos por citocinas de tipo T helper 2 (Th2), incluindo interleucinas (IL) -4, 5, 10 e 13. Os fatores quimiotáticos, incluindo o

eotaxina e RANTES (Regulado na Ativação Normal Tcell Expresso e Secreto) também têm um papel na infiltração de eosinófilos, uma vez no tecido, os eosinófilos liberam proteínas granuladas e metaloproteinases, contribuindo para a destruição tecidual e formação de bolhas (VAUGHAN, 2010).

É importante conhecer a histologia das lesões, pois nas lesões poderão ser observadas a presença de neutrófilos, células acantolíticas e eosinófilos (CESCA, 2016), que é bem característico. As biópsias cutâneas revelam pustulas neutrofílicas / eosinofílicas subcorneanas, intragranulares ou subgranulares de acantolítica neutrofílica ou mista (Figura 2) (OLIVRY, 2009).

4 Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se na anamnese, nos aspectos sintomáticos e nas lesões tegumentares (tipos e localização) além da frequente evidência de células acantolíticas, pela Técnica de Tzanck, em material colhido de conteúdo pustular (BALDA, 2008).

A citologia e imprint deverão ser realizadas nas pústulas intactas ou crostas recentemente formadas. As pústulas são estéreis e resultados de cultura bacteriana poderá ser positiva devido as bactérias contaminantes (CESCA, 2016).

Como exame complementar soberano, indica-se o histopatológico. Neste, confirma-se o diagnóstico através da evidência de acantólise intragranular ou subcórnea, resultando em fendas que são clinicamente retratadas pela formação de vesícula ou pústula, que contêm neutrófilos, eosinófilos e acantócitos (Figura 4) (BALDA, 2008; FERNANDES, 2009; CESCA, 2016).

5 Tratamento

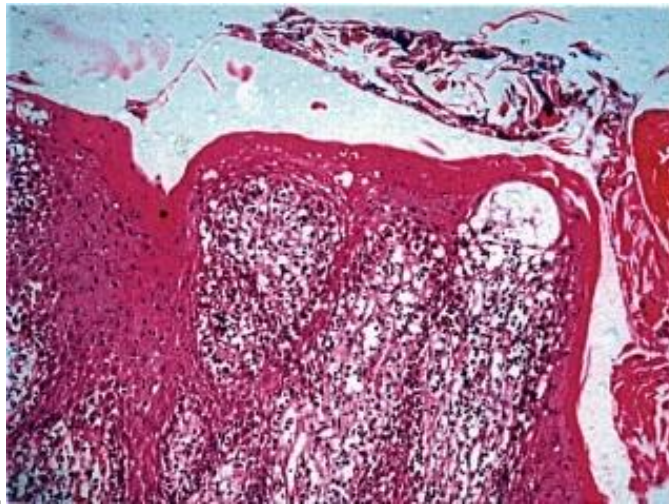
O tratamento medicamentoso deve ser de uso contínuo, se estendendo por toda a vida. Inicialmente com uma dose de "ataque" até a melhora dos sinais clínicos e a seguir com doses de manutenção específica para cada animal. É realizado através de supressão imune, isso é alcançado com altas doses de corticosteróides (prednisona ou dexametasona), logo, faz-se necessária a associação de um citostático à corticoideterapia por, aproximadamente, três semanas. Sabendo que efeitos colaterais durante uso de altas doses de hormônios esteróides são esperados, necessita-se de uma posterior reavaliação clínica e estabelecimento de doses, na frequência adequada, de ambas as drogas, visando-se utilizar doses que tragam mínimos efeitos colaterais, pois o paciente pode vir a apresentar poliúria, polifagia e ganho de peso, podendo também a desenvolver diabetes. Exames de rotina devem ser realizados, como hemograma, função renal, hepática, urinálise e o uso de filtros solares com fatores acima de 15 fps (fator de proteção solar) são de extrema importância. A Vitamina E e os ácidos graxos podem ser benéficos para alguns pacientes. O objetivo é tratar, mantendo o animal em boas

condições clínicas e sem lesões cutâneas (BALDA, 2002; FERNANDES, 2009; BARBOSA, 2012; CESCA, 2016).

6 Considerações finais

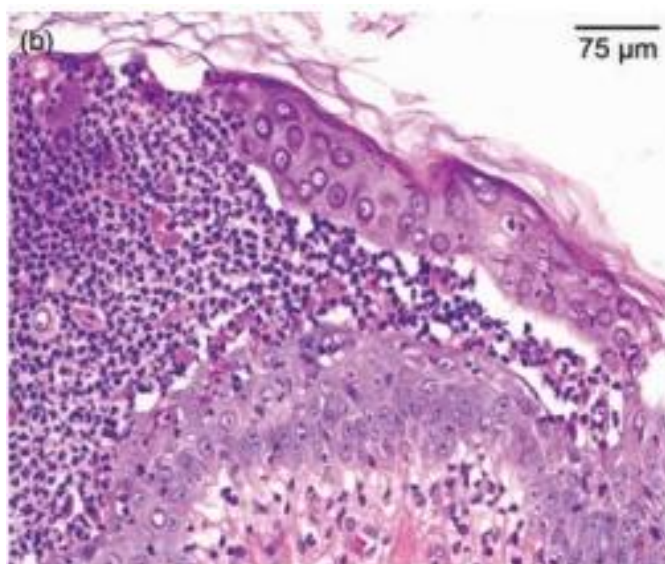
Os aspectos histológicos do pêfigo foliáceo em cães são caracterizados pela presença de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e células acantolíticas, sendo estas alterações características de dermatopatias inflamatórias que formam vesículas intraepidermais. Sendo assim, devido a estas características estruturais, o exame histopatológico é essencial para a confirmação do diagnóstico da doença.

Figura 1: Dermatite intraepidermal vesicular. Fotomicrografia de dermatite intraepidermal vesicular subcorneana. Penfigo foliáceo. Notar formação de vesícula subcorneana contendo neutrófilos e linfócitos. Pele. Cão. Hematoxilina de Harris e Eosina. **Objetiva de 10x.**



Fonte: WENER, 2002.

Figura 2: Estas lesões contêm numerosos neutrófilos, eosinófilos ocasionais e números variáveis de queratinócitos acantolíticos que são individualizados ou destacados como aglomerados. Hematoxilina de Harris e Eosina.



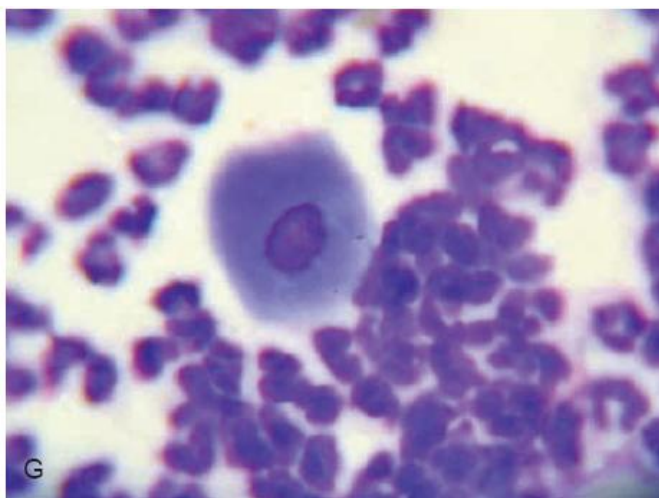
Fonte: OLIVRY, 2009.

Figura 3: Chow chow, 5 anos, macho, apresentando crostas hemo-melicéricas por toda face.



Fonte: FERNANDES, 2009.

Figura 4: Imagem microscópica de células neutrófilas e acantolíticas, tal como vistos em uma **Objetiva com aumento de 100x** (imersão em óleo). Células acantolíticas são sugestivas de pênfigo. Corante modificado de Wright (Diff-Quick®).



Fonte: KEITH A. HNILICA, 2012.

7 Referências

- ALVES, H. M. et. al. Pênfigo foliáceo canino – relato de caso. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.19; p. 1438-1447, 2014.
- BALDA, A. C. et al. Pênfigo Foliáceo em cães: levantamento retrospectivo de casos atendidos no período de novembro de 1986 a julho de 2000 e de resposta aos protocolos de terapia empregados no Hospital Veterinário da USP. **Revista brasileira Ciência Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 97-101, maio/ago. 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2015.238>
- BALDA, A. C. et al. Pênfigo foliáceo canino: estudo retrospectivo de 43 casos clínicos e terapia (2000-2005). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 8, p. 387-392, 2008.
- BARBOSA, M. V. F. Patofisiologia do Pênfigo Foliáceo em cães: revisão de literatura. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 6, n. 3, p. 26-31, 2012.
- CESCA, G. S. Pênfigo foliáceo em cão: Relato e estudo de caso. Monografia – título especialista. Centro de Ensino e qualificação Superior Equalis do Centro Universitário – CESMAC. 2016.
- FERNANDES, D. F. Pênfigo foliáceo em cães. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2009.
- HNILICA, KEITH A. **Dermatologia de Pequenos Animais: Atlas Colorido e Guia Terapêutico**. 3.ed. - Rio de Janeiro. Editora Elsevier, 2012.
- MACÊDO, J. T. S. A. et al. Pênfigo foliáceo em cabra Boer. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2633-2635, 2008.
- OLIVRY, T.; LINDER, K. E. Dermatoses affecting desmosomes in animals: a mechanistic review of acantholytic blistering skin diseases. **Veterinary dermatology**, v. 20, n. 5-6, p. 313-326, 2009.
- VAUGHAN, D. F. et al. Clinical and histopathological features of pemphigus foliaceus with and without eosinophilic infiltrates: a retrospective evaluation of 40 dogs. **Veterinary dermatology**, v. 21, n. 2, p. 166-174, 2010.
- WERNER, J. Avaliação histopatológica das dermatopatias de pequenos animais diagnosticadas entre janeiro de 1998 e abril de 2001 em Curitiba-Paraná. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. 2002.

AUSÊNCIA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS ANTI-*BRUCELLA* SPP. EM ASININOS (*EQUUS ASSINUS*) DO NORDESTE BRASILEIRO

**Cynthia Maria Moraes de Queiroz Galvão¹, Müller Ribeiro-Andade¹, Breno
Bezerra Aragão¹, Marcus Vinicius Dias Falcão¹, Rinaldo Aparecido Mota¹**

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco
cynthiamqg@hotmail.com

Resumo

A brucelose é uma enfermidade infectocontagiosa ocasionada pela bactéria Gram-negativa *Brucella* spp. Possui importância tanto para saúde pública devido ao seu caráter zoonótico, quanto para a produção animal, uma vez que pode acometer uma grande variedade de espécies domésticas reduzindo produtividade e, consequentemente, levando a prejuízos econômicos. Pretendeu-se com este trabalho avaliar a infecção por *Brucella* spp. em 149 soros sanguíneos de asininos provenientes do estado do Rio Grande do Norte, nordeste do Brasil. Utilizou-se o Teste de Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como prova sensível (de triagem), e os testes de Mercaptoetanol (2-ME) e a Prova de Soroaglutinação Lenta (SAT) como provas de maior especificidade. Uma soroprevalência de 6,04% (9/149) dos animais testados foi observada no AAT e nenhum animal reagiu positivamente à 2-ME e a SAT. O estudo demonstra a ausência de anticorpos específicos anti-*Brucella* sp. em asininos criados no nordeste do Brasil.

Palavras chave: sorologia, brucelose, equídeos.

1 Introdução

As bactérias do gênero *Brucella* são cocobacilos Gram-negativos, intracelulares facultativos, não esporuladas que infectam principalmente células do sistema mononuclear fagocitário. São divididas em dois grupos antigênicamente distintos: lisas ou clássicas e rugosas, nas quais se diferenciam pela composição bioquímica dos lipolissacarídeos de suas paredes celulares, esta diferenciação está diretamente relacionada com o seu grau de virulência. Uma gama de animais, dentre espécies domésticas e silvestres, inclusive o homem, podem ser acometidas (METCALF, 1994).

Brucella spp. são responsáveis por causar a brucelose, antropozoonose infectocontagiosa, de curso geralmente crônico e de importante impacto econômico e sanitário, não só no Brasil como em diversas partes do mundo (OIE, 2009). A brucelose está associada a alterações reprodutivas em ruminantes, caninos e suínos, mas não em equídeos, com destaque para as lesões abscedantes em região cervical, bursas, tendões e articulações nesses animais (RIBEIRO et al., 2008). Devido à importância e impacto na bovina e bubalina cultura, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), implementou o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), instituindo a vacinação obrigatória para bovinos e

bubalinos, e o certificado de propriedades livres ou monitoradas, com o objetivo de controlar e amenizar as consequências dessas zoonoses na saúde humana e animal (BRASIL, 2006).

Investigações prévias têm demonstrado que *Brucella*spp. possui pouca importância epidemiológica para equinos, muares e asininos se considerado a infecção em bovinos, por exemplo. Todavia, em decorrência do quadro debilitante, da ocorrência de eutanásia em caso de animais com status sorológico positivo e da atuação desses animais como fonte de infecção (RIBEIRO et al., 2008; OLIVEIRA FILHO et al., 2013) estudos soroepidemiológicos tornam-se necessário para determinar um quadro mais fidedigno da enfermidade em equídeos.

Asininos são animais que apresentam importância cultural, social, econômica e ecológica, sendo utilizados em atividades agrícolas, na produção de proteína para alimentação humana em alguns países, para transporte em áreas rurais e carregamento de cargas (AEPGA, 2014). No Nordeste brasileiro, esses animais são muitas vezes errantes, fator que pode contribuir para susceptibilidade e dispersão a alguns patógenos. Objetivou-se com esse estudo avaliar a infecção por *Brucella* spp em asininos do nordeste brasileiro.

2 Material e Métodos

Foram obtidas amostras de 149 asininos provenientes do estado do Rio Grande do Norte, da cidade de Apodi. Esses animais eram mantidos num santuário, que recolhia animais errantes. As amostras de sangue foram coletadas, os soros posteriormente obtidos e armazenados a -20°C até sua análise.

As técnicas de Antígeno Acidificado Tamponado ou teste do Rosa Bengala, a prova de 2-Mercaptoetanol (2-ME) e a prova de Soroaglutinação Lenta (SAT) foram executadas seguindo as recomendações Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose (PNCEBT, 2006). Controles positivos e negativos foram utilizados em cada etapa do processamento.

3 Resultados e Discussão

Dos 149 animais testados, 9 (6,04%) foram reagentes ao teste AAT, porém apresentaram negatividade quando submetidos às provas de 2-ME e SAT.

O ATT é preconizado como teste de triagem pelo PNCEBT, por se tratar de uma prova rápida, de fácil execução, baixo custo e com sensibilidade de 98 a 100% (BRASIL, 2001; GREVE et al., 2007). Esse teste é baseado no princípio de que o pH ácido aumenta a capacidade de aglutinação da IgG e diminui a reatividade da IgM (WRIGHT; NIELSEN, 1990). A alta sensibilidade do AAT, muitas vezes detecta animais falso-positivos, deste modo, testes mais específicos como 2-ME e SAT são necessários para a confirmação do agente (MEGID et al., 2000). A utilização do 2-ME aumenta a especificidade da reação, pois inibe a atividade de aglutinação da IgM e aumenta a reatividade da IgG (NIELSEN, 1995; TIMONEY et al., 1988).

Algumas bactérias compartilham semelhanças químicas na estrutura imunodominante

do lipolissacarídeo (LPS) e com isso, reações cruzadas podem ocorrer, uma vez que o diagnóstico sorológico da infecção é baseado no reconhecimento dos anticorpos ao (LPS) da *Brucella* sp. (KO et al., 2011). Assim, presença de anticorpos de outras bactérias como *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* e *Pseudomonas* sp. pode influenciar numa resposta sorológica positiva nos animais testados para *Brucella* spp. (NIELSEN et al. 2004; DUCROTOY et al., 2016).

Dorneles et al. (2013), num estudo desenvolvido com asininos do Rio Grande do Norte, e Oliveira Filho et al (2013), com animais da microrregião do Brejo Paraibano, também relataram ausência de anticorpos anti-*Brucella* spp. Esses achados, que corroboram com o descrito nesse estudo, pode estar associado com o fato desses animais manterem hábitos errantes, diminuindo seu contato com outras espécies domésticas, como bovinos, bubalinos e suínos (ACHA; SZYFRES, 2003). Fato esse descrito por Lopes et al (1999), que ao realizarem estudo soroepidemiológico de *Brucella* spp. em diferentes espécies domésticas demonstraram a positividade de anticorpos em equinos (17,85%) e em bovinos (19,14%), apontando a provável co-habitação interespecies como auxiliador na disseminação da doença.

Almeida et al. (2007) observaram 2% (15/875) de equinos provenientes de abate com soro reagente na técnica AAT pelo AAT e Antunes et al. (2008) observaram uma soropositividade de 6,5% (8/123) em equinos de carroça criados no sul do Brasil, também testados para o AAT. Já a frequência de positividade de asininos, num estudo desenvolvido em Minas Gerais foi de 0,91% (1/110) (Jr. Junqueira et al., 2015). Assim como os equinos, os asininos são animais que muitas vezes circulam tanto em áreas rurais quanto em áreas urbanas, convivendo com outras espécies, inclusive o homem (LUCERO et al., 2008). Esses animais são negligenciados quanto à sua importância à saúde pública, e apesar da negativa de evidência de exposição a *Brucella* spp. nesse estudo, esses animais podem ser sugestivos de sentinela para outros agentes infecciosos.

A ausência de animais positivos no AAT, mas negativos nos testes confirmatórios (2-ME e SAT) no presente estudo sugere que a infecção por *Brucella* spp. não está presente ou a prevalência é muito baixa na população estudada.

4 Referências

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales**. Washington: Oficina Sanitária Panamericana, 1986. 989p
- ANTUNES, J.M.A.P.; ALLENDORF, S.D.; APPOLINÁRIO, C.M.; PERES, M.G.; PEROTTA, J. H.; NEVES, T.B.; DECONTO, I.; BARROS FILHO, I.R.; BIONDO, A.W.; MEGID, J. Serology for *Brucella abortus* in cart horses from an urban area in Brazil. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v. 65, n.2, p.619-621, 2013
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)**: Manual Técnico/organizadores, Vera Cecilia Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília: MAPA/SDA/DAS; 2006.
- DORNELES, E.M.S.; FERNANDES, L.G.; SANTANA, J.A. et al. Anti-*Brucella abortus* antibodies in free-ranging equids from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. **Semina Cienc. Agrárias**, v.34, p.1281-1286, 2013.

DUCROTOY, M. J.; CONDE-ÁLVAREZ, R.; BLASCO, J. M.; MORIYÓN, I. A review of the basis of the immunological diagnosis of ruminant brucellosis. **Vet Immunol Immunopathol**, v.171, p. 81-102 2016.

GREVE, I. C.; ZERBINATI, J.; LEAL, R. F.; AMORIM, L. M. P. V. de; SILVA, D. L. da; OLIVEIRA, E. M. de D.; CARMINATI, R.; CERQUEIRA, R. B. Estudo comparativo da sensibilidade e especificidade dos testes antígeno acidificado tamponado (AAT) e 2-mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose bovina. **Revista Acadêmica**, v. 5, n.3, p. 255-263, 2007.

JARDIM, G. C.; PIRES, P. P.; MATHIAS, L. A.; RIBEIRO, O. C. Diagnóstico sorológico da brucelose bovina em animais adultos vacinados com dose reduzida da cepa 19 de *Brucella abortus*. **Pesq Vet Bras**, v. 26, n. 3, p. 177-182, 2006.

JUNQUEIRA Jr., D. G.; Dorneles, E. M. S.; Gonçalves, V. S. P.; Santana, J. A., Almeida, V. M. A.; Nicolino, R. R.; Silva, M. X.; Mota, A. L. A. A.; Veloso, F. P.; Stynena, A. P. R.; HEINEMANN, M. B.; Lagea, A. P. Brucellosis in working equines of cattle farms from Minas Gerais State, Brazil. **Prev Vet Med**. v. 121, 380–385, 2015

LOPES, C.F.A.; MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E. Avaliação soroepidemiológica da brucelose em animais e humanos procedentes da zona brasileira no Estado do Pará, Brasil. **Rev Bras Reprod Anim**, v.23, p.429-431, 1999.

LUCERO, N.E.; AYALA, S.M.; ESCOBAR, G.I. et al. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. **Epidemiol Infect**, v.136, p.496-503, 2008.

MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; MARCOS JUNIOR, G.; CROCCI, A. J. Avaliação das provas de soroaglutinação rápida, soroaglutinação lenta, antígeno acidificado tamponado e 2-mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose bovina. **Braz J Vet Res Anim Sci**, v. 37, n. 5, 2000.

METCALF, H.E.; LUCHSINGER, D.W.; RAY, W.C. BRUCELLOSIS. In: BERAN, G.W.; STEELE, J.H. (Eds.). **Handbook of zoonoses**. section A: bacterial, rickettsial, chlamydial, and mycotic. 2.ed. Raton: CRC Press, 1994. p.9-39.

NIELSEN, K. A brief review of diagnosis of bovine brucellosis by detection of antibody. **Arch. Med. Vet**. v. 27, p.9-17, 1995.

NIELSEN, K.; SMITH, P.; WIDDISON, J.; GALL, D.; KELLY, L.; KELLY, W.; NICOLETTI, P. Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7. **Vet Microbiol**, v. 100, n 1-2, p. 25-30, 2004.

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal (World Organisation for Animal Health) **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2009**. OIE Terrestrial Manual 2008, World Organisation for Animal Health, Paris, França, 2009.

OLIVEIRA FILHO R. B.; MALTA, K. C.; SANTANA, V. L. A.; SOUZA, M. M. A.; STIPP, D. T., PINHEIRO JÚNIOR, J. W. Prevalência da infecção por *Brucella* spp. em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano. **Vet e Zootec**, v. 20, n. 4, p. 588-591, 2013.

RIBEIRO, M.G.; MOTTA, R.G.; ALMEIDA, C.A.S. Brucelose equina: aspectos da doença no Brasil. **Rev. Bras. Reprod Anim**, v. 32, p. 83-92, 2008.

SCHOLZ, H. C.; NÖCKLER, K.; GÖLLNER, C.; BAHN, P.; VERGNAUD, G.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; KÄMPFER, P.; CLOECKAERT, A.; MAQUART, M.; ZYGMUNT, M. S.; WHATMORE, A. M.; PFEFFER, M.; HUBER, B.; BUSSE, H. J.; DE, B. K. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. **Int J Syst Evol Microbiol.** v. 60, p. 801, 2010

SCHOLZ, H.; HUBALEK, Z.; SEDLÁČEK, I.; VERGNAUD, G.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; MELZER, F.; KÄMPFER, P.; NEUBAUER, H.; CLOECKAERT, A.; MAQUART, M.; ZYGMUNT, M. S.; WHATMORE, A. M.; FALSSEN, E.; BAHN, P.; GÖLLNER, C.; PFEFFER, M.; HUBER, B.; BUSSE, H. J.; NÖCKLER, K. *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. **Int J Syst Evo Microbiol**, v. 58, p. 375–382, 2008.

TIMONEY, J.F.; GILLESPIE, J.H.; SCOTT, F.W.; BARLOUGH, J.E. **Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals**. London: Comstock Publishing Associates. Division of Cornell University Press, p.135-144, 1988.

WRIGHT, P.; NIELSEN, K.H. Current and future serological methods. In: ADAMS, G. (Ed.). **Advances in brucellosis research**. Austin: Texas A&M University Press, College Station, p.305-319, 1990.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL DE RATOS EXPOSTOS A RADIAÇÃO IONIZANTE.

**Camilla de Andrade Tenorio Cavalcanti¹, Isvânia Serafim da Silva Lopes²,
Leandro Álvaro de Alcantara Aguiar¹, Maria Teresa Jansem de Almeida
Catanho², Alexandre Parísio Barbosa de Oliveira³, Romildo de
Albuquerque Nogueira¹**

¹Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional, UFRPE;
²Laboratório de Biofísica Celular e Molecular, UFPE; ³Instituto de Radioterapia
Waldemir Miranda.
camillat.bio@gmail.com

Resumo

A radiação ionizante (RI) é utilizada em tratamentos contra tumores cerebrais, contudo, estudos demonstram que a RI pode causar efeitos adversos nos sistemas biológicos, incluindo, o Sistema Nervoso Central (SNC). Com o intuito de fornecer mais dados sobre os efeitos da RI no SNC, o objetivo da pesquisa foi avaliar a atividade elétrica cerebral de ratos expostos à RI. Para o procedimento experimental foram utilizados doze animais, todos machos com 60 dias, que foram separados em dois grupos (n = 6): controle e irradiado. Inicialmente, os animais passaram por um procedimento cirúrgico para implante dos eletrodos, pois, através do Eletrocorticograma (ECoG), é possível avaliar com precisão a atividade elétrica cerebral. Os registros de ambos os grupos experimentais foram obtidos com 24 horas e 30 dias, onde pode-se observar alterações nas ondas cerebrais através do uso de duas técnicas: a Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ), que demonstrou diminuição da complexidade do sinal cerebral, passando de 0,5552 (controle) para 0,4314 (irradiados com 30 dias) e do Espectro de Potência do ECoG, onde pode-se observar aumento da atividade das ondas cerebrais beta e delta juntamente com a diminuição de alfa e teta.

Palavras chave: ondas cerebrais, ECoG, CLZ

1 Introdução

A radioterapia craniana é uma modalidade de tratamento importante na gestão dos tumores primários e metastáticos do cérebro, leucemia e linfomas. Entretanto, essa modalidade de terapia pode ocasionar alterações cerebrais que geram danos ao indivíduo, incluindo, cognitivos (GARCIA, 2015; ANDRES-MACH, 2008; MONJE, 2003; LOGANOVSKY, 2001). Além disso, a exposição do indivíduo à radiação ionizante (RI) pode causar efeitos diretos e indiretos nas estruturas vivas. Os efeitos indiretos resultam em radicais livres, que são bastante reativos, podendo interferir com o metabolismo de proteínas, dos lipídios e carboidratos, e quanto aos efeitos diretos, eles ocorrem quando a radiação é absorvida diretamente por moléculas importantes no metabolismo celular, como enzimas e o DNA (GARCIA, 2015).

H. Davis e P. Davis (1939) foram os primeiros pesquisadores que utilizaram o eletroencefalograma (EEG) para estudar os efeitos das radiações ionizantes sobre o cérebro. Em seus estudos, eles encontraram significativas mudanças na atividade elétrica em macacos expostos à radiação, enquanto que, Yaaret *al* (1982) mostraram que doses de radiação ionizante entre 1,5 e 4 Sv podem ocasionar um aumento das ondas beta no EEG em homens e mulheres.

Pesquisas demonstram que as células neurogênicas localizadas na zona subgranular (SGZ), que dão origem aos neurônios do giro dentado do hipocampo (CHEN, 2008), são sensíveis à radiação ionizantes, pois doses que variam entre 0,4 Gy e 18 Gy podem levar a apoptose dessas células. Após 48 horas da exposição à radiação ionizante é possível observar uma redução da proliferação de células, da diferenciação celular e aumento da apoptose, que podem persistir durante meses (ANDRES-MACH, 2008; MONJE, 2003).

Alguns estudos apoiam a hipótese de que essa diminuição da neurogênese contribui para os déficits cognitivos apresentados por pacientes após a radioterapia craniana (MONJE, 2003). Mesmo pequenas doses, podem afetar vias neurais envolvidas no envelhecimento normal, bem como nas vias envolvidas na doença de Alzheimer. Também podem ocasionar mudanças no perfil de expressão do gene, e respostas neuroinflamatórias (LOGANOVSKY, 2009).

Em trabalhos experimentais a atividade elétrica cortical pode ser obtida diretamente do córtex do animal, com uma técnica conhecida como eletrocorticograma (ECoG), enquanto que no eletroencefalograma (EEG) os sinais cerebrais são capturados por meio de eletrodos posicionados no couro cabeludo, o que caracteriza uma forma não invasiva. O eletrocorticograma (ECoG) é uma metodologia de registro da atividade elétrica do córtex cerebral, a qual utiliza eletrodos fixados diretamente na superfície exposta do córtex. O ECoG registra a atividade na superfície ou no interior do córtex cerebral, portanto é mais invasivo do que o EEG, porém traz informações com maior precisão (SANTOS, 2007; CARDOSO, 2005). Métodos matemáticos têm sido usados na análise dos registros do EEG e do ECoG (AGUIAR et al, 2015), dentre esses métodos a complexidade de Lempel-Ziv tem sido usada para investigar a complexidade do sinal do EEG e ECoG (PESSOA et al, 2015; AVILOV; POPOV, 2014). Portanto, esses métodos serão de grande utilidade para investigar possíveis alterações causadas pela radiação ionizante no cérebro. Com base no exposto, esse trabalho busca analisar, por meio de métodos matemáticos, possíveis alterações na atividade elétrica em ratos expostos a RI, procurando compreender, de modo associativo, os efeitos das radiações ionizantes em humanos que passaram por uma radioterapia.

2 Material e Métodos

2.1. Grupos Experimentais:

Foram utilizados doze ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. albinus), machos e com 60 dias de idade. Os doze ratos foram divididos em dois grupos com seis animais cada. O Grupo 1, com animais não expostos a RI e o Grupo 2, com animais expostos a RI. Ambos os grupos foram analisados com 24 horas e 30 dias.

2.2. Procedimentos Cirúrgicos Para Implante Do Eletrodo:

Aos 60 dias de idade, os animais foram anestesiados com xilazina (10 mg/kg) e quetamina (75 mg/kg) via intraperitoneal (IP). Com o animal já anestesiado é realizado uma tricotomia, ou seja, remoção dos pelos, e assepsia do campo cirúrgico. Os animais tiveram suas cabeças fixadas à base de um aparelho estereotáxico e em seguida foi realizada uma incisão longitudinal da pele, na linha média do crânio. Com auxílio de um micromotor foram feitas duas perfurações, uma na região parietal e outro na região nasal. Nessas pequenas perfurações foram fixados dois micros parafusos (MP) de aço inox, utilizados posteriormente como eletrodos para realização do registro. Para fixação dos parafusos foi utilizada resina acrílica e em seguida a pele foi suturada, expondo apenas os MP.

2.3. Exposição à Radiação Ionizante:

Os animais foram irradiados no Instituto de Radioterapia Waldemir Miranda (IRWAM), Recife-PE, Brasil. Para tal, os mesmos, foram anestesiados com xilazina (10 mg/kg) e quetamina (75 mg/kg) via IP, e em seguida foram posicionados na mesa de um acelerador linear Varian, modelo Clinac600C (Figura 1).

A dose utilizada foi de 18 Gy de raios-X, de forma que os raios foram colimados para que somente a região de cabeça/pescoço fossem irradiadas, sendo metade aplicados na parte superior (9 Gy) e a outra na parte inferior da cabeça (9 Gy). A taxa de dose utilizada foi de 2,4 Gy/min a 1,5 cm de profundidade, sendo o tempo total de exposição de 5,02 minutos.

2.4. Registro da Atividade Elétrica Cerebral:

Todos os animais do Grupo 1 e do Grupo 2, tiveram as suas atividades elétricas cerebrais registradas durante 20 minutos através de um aparelho EMG 410C (ENG System, Brasil) utilizando uma taxa de amostragem de 750 Hz. Os registros foram realizados em três momentos: antes da exposição à RI, com 24 horas e 30 dias após a exposição.

2.5. Metodologias Computacionais de Análise da Atividade Elétrica Cerebral:

Os registros foram segmentados em janelas de 2 minutos. E esses segmentos foram importados para o programa Matlab 7.8 (Mathworks, Natick, MA, USA), no qual foram implementados algoritmos para análises das ondas cerebrais do ECoG, por meio da Transformada Fourier (TF) e Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ).

2.6. Análise Estatística:

O teste estatístico de Kruskal-Wallis com o post-hoc de Dunn foi usado na análise dos valores obtidos para CLZ.

3 Resultados e Discussão

Com o espectro de potência do ECoG foi possível identificar as variações entre as ondas cerebrais dos animais do grupo controle, e aqueles analisados com 24 horas (RI24h) e o com 30 dias (RI30d) após a irradiação. Estudos já comprovaram que o padrão do eletroencefalograma (EEG) em humano exposto a radiação ionizante é bastante distinto quando comparado ao padrão de um indivíduo não exposto. Nos indivíduos expostos pode-se observar um aumento da atividade das ondas cerebrais beta

e delta juntamente com a diminuição de alfa e teta (LOGANOVSKY, 2001). Essas alterações podem ser observadas claramente nos padrões do espectro de potência do ECoG já 24 horas após a irradiação e são ainda mais marcantes ao serem analisados após 30 dias (Figura 2).

Outra análise quantitativa foi também realizada para avaliar a ação da radiação ionizante na atividade elétrica cerebral, a Complexidade Lempel-Ziv (CLZ). Após calcular os valores da CLZ utilizando o MATLAB, foi construído um gráfico comparativo entre o grupo controle, RI24h e RI30d (Figura 3), onde foi observado que os animais do grupo controle possuíam uma CLZ de 0,5552, que passou de 0,4931 com 24 horas e 0,4314 com 30 dias. Contudo, a análise estatística mostrou que os valores de CLZ diferiram do controle somente após 30 dias da exposição à radiação, ao nível de significância 0,039. O resultado da CLZ mostra que alterações observadas no sinal do ECoG é um efeito tardio da irradiação.

Através das análises feitas com os animais do grupo controle e do grupo irradiado, pode-se concluir que a RI afeta o sistema nervoso central já nas primeiras 24 horas após a exposição, portanto, o SNC não pode ser considerado radioresistente. Também é observado que as alterações tanto nas ondas cerebrais quanto na CLZ continuaram quando os animais foram avaliados com 30 dias, isso significa que os danos causados pela RI podem ser permanentes.

FIGURAS



Figura 1: Acelerador linear Varian, modelo Clinac 600C.

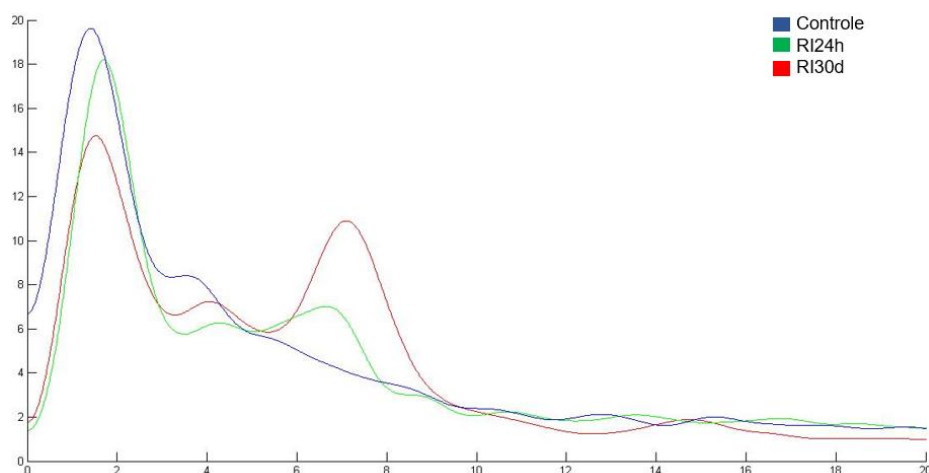


Figura 2: Espectro de Potência do EcoGdo grupo controle (vermelho), RI24h (verde) e RI30d (azul). As ondas cerebrais Delta (0,5 – 4 Hz), Teta (4 – 8 Hz), Alfa (8 – 12 Hz) e Beta (12 – 32Hz).



Figura 3: Análise da Complexidade de Lempel-Ziv dos animais do grupo controle, RI24h e RI30d.

4 Agradecimentos e apoios

Agradeço aos meus orientadores Prof Dr. Romildo Nogueira e Prof. Dr^a Isvânia Lopes por todo apoio prestado, ao Físico Alexandre Parísio Barbosa de Oliveira e ao Instituto de Radioterapia Wandermir Miranda pela disponibilidade durante os procedimentos de exposição dos animais à radiação ionizante, ao CNPq/UFRPE pela bolsa de Iniciação Científica e ao meu namorado (Lucas) e aos meus pais pelo apoio.

5 Referências

- AGUIAR, L. A. A; SILVA, I. M. S; FERNANDES, T. S; NOGUEIRA, R. A. Long-term correlation of the electrocorticogram as a bioindicator of brain exposure to ionizing radiation. **Brazilian Journal Of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 10, p 915 – 922; 2015.
- ANDRES-MACH, M; ROLA, R; FIKE, J. R. Radiation effects on neural precursor cells in the dentate gyrus. **Cell and tissue research**, v. 331, n. 1, p. 251 – 262, jan. 2008.

- AVILOV, O.; POPOV, A. Different permutation entropy patterns of electroencephalogram recorded during epileptiform activity. *Электроника и связь*, v. 19, n. 1, p. 6-14, 2014.
- CARDOSO, R. P. **Uma estratégia de modelagem tridimensional para mapeamento do EEG de superfície**. 2005. 187 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.
- CHEN, D. F; JIAO, J. Induction of neurogenesis in nonconventional neurogenic regions of the adult central nervous system by niche astrocyte-produced signals. *Stem Cells*, v. 26, p. 1221 – 1230, 2008.
- DAVIS H; DAVIS, P. A. The electrical activity of the brain its relation to physiological states and to states of impaired consciousness. **Research Publications, Association for Research in Nervous Mental Diseases**, v. 19, p. 50, 1939.
- GARCIA, E. A. C. **Biofísica**. São Paulo: Editora Sarvier, 505 f. 2015.
- GREENE-SCHOLOESSER D; ROBBINS M. E; PEIFFER, A. M; SHAW, E. G. SHAW, WHEELLES, K. T; CHAN, M. D. Radiation-induced brain injury: a review. *Frontiers in Oncology*, v. 2, n. 73, p. 1 – 18; 2012.
- IBÁÑEZ-MOLINA, A. J. ET AL. Multiscale Lempel–Ziv complexity for EEG measures. *Clinical Neurophysiology*, v. 126, n. 3, p. 541-548, 2015.
- KASPAR F. AND SCHUSTER H.G., Easily calculable measure for the complexity of spatiotemporal patterns. *Physics Review A*, v. 36, no. 2, pp. 842-848, 1987.
- KEDADOUCHE M., THOMAS M., TAHAN A., GUILBAULT R, Monitoring gears by vibration measurements: Lempel-Ziv complexity and Approximate Entropy as diagnostic tools, **MATEC Web of Conferences** 20, 2015.
- LEE, CHUN SIONG ET AL. Integrating EEG Modality in Serious Games for Rehabilitation of Mental Patients. In: Simulations, Serious Games and Their Applications. **Abstract**. Springer Singapore. 2014. p. 51-68.
- LEMPEL A. AND ZIV J., On the complexity of finite sequences. **IEEE Trans. Inform. Theory**, Jan. IT22, 75–81, 1976.
- LOGANOVSKY, K. N; YURYEV, K. L. EEG patterns in persons exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident: part 1: conventional EEG analysis. **The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences**, v. 13, n. 4, p. 441 – 458; 2001.
- LOGANOVSKY, K. N. Do low doses of ionizing radiation affect the human brain? **Advance Publication, Data Science Journal**; jun. 2009.
- MONJE, M. L; PALMER, T. Radiation injury and neurogenesis. **Current opinion in neurology**, v. 16, n. 2, p. 129 – 134, abr. 2003.
- NUNES, C. A. J. **Algoritmo de Lempel-Ziv aplicado à classificação quantitativa de autómatos celulares**. 2014. 127 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.
- PESSOA, D; CRUZ, R; MACHADO, B; TENORIO B; NOGUEIRA R. A. Analysis of electrocorticographic patterns in rats fed standard or hyperlipidic diets in a normal state or during status epilepticus. **Nutritional Neuroscience**, v. 0, n. 0, p 1 -7; 2015.

SANTOS, W. **Análise estatística do eletrocorticograma durante o fenômeno da depressão alastrante em córtex cerebral de ratos nutridos e desnutridos.** 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado em Biometria e Estatística Aplicada). Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2007.

SCHINEIDER, F. **Uso da calendula officinalis na prevenção e tratamento de radiodermite em cabeça e pescoço: ensaio clínico randomizado duplo cego.** 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

SIMONS, S.; ABASOLO, D.; HUGHES, M.. Investigation of Alzheimer's Disease EEG Frequency Components with Lempel-Ziv Complexity. In: 6th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering. 2015. **Abstract.** Springer International Publishing, 2015. p. 46-49.

WEISSTEIN, E. W. Fourier Transform. **MathWorld, A Wolfram Web Resource,** 2004.

YAAR I; RON E; MODAN B. Long-lasting cerebral functional changes following moderate dose X-radiation treatment to the scalp in childhood: an EEG power spectral study. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, v. 45, p. 166 – 169; 1982.

AVALIAÇÃO DE MODELOS DIDÁTICOS ÓSSEOS DE RESINA QUANTO À SUA QUALIDADE E APLICABILIDADE PARA O ENSINO DE ANATOMIA HUMANA

Dayana Maria Serafim da Silva¹ e Vitor Caiaffo Brito²

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco

²Universidade Federal de Pernambuco
dayanamserafim@gmail.com

Resumo

O objetivo desse trabalho foi avaliar qualitativamente modelos didáticos ósseos de resina desenvolvidos para o ensino de anatomia humana. Foram utilizados modelos didáticos e participaram da pesquisa discentes do curso de Licenciatura em Educação Física, também docentes da disciplina de Anatomia Humana. Os modelos obtiveram conceito ótimo pela maioria dos docentes nos critérios estabelecidos, também revelaram que utilizariam tais modelos artesanais nas aulas práticas. E os discentes emitiram conceitos ótimo em alguns critérios. Deste modo o presente trabalho apresenta uma nova alternativa didática, comprovada por profissionais da área de anatomia e por discentes que podem auxiliar no ensino da osteologia e facilitar o entendimento dos estudantes da disciplina de anatomia humana.

Palavras chave: anatomia humana, didática inovadora, modelos didáticos, osteologia, resina.

1 Introdução

A Anatomia é a ciência que estuda macro e microscopicamente, a constituição e o desenvolvimento dos seres organizados, ou seja, é o estudo das estruturas do corpo, e quando o foco é apenas a anatomia entre humanos é denominada anatomia humana (QUEIROZ, 2005; DANGELO; FATTINI, 2010).

A disciplina de anatomia humana é um componente curricular obrigatório para os cursos da Saúde e Ciências Biológicas. É considerada uma ciência básica e geralmente ministrada nos períodos iniciais destes cursos. O objetivo desta disciplina é compreender e relacionar o nome a cada região específica do corpo humano, para que assim as ações direcionadas ao corpo sejam realizadas no local e de maneira correta. (SALING, 2007; SILVA et al., 2012).

A osteologia, em sentido restrito e etimologicamente, é o estudo dos ossos que proporciona ao corpo um arcabouço e, quando unidos em sua posição apropriada, formam o esqueleto. No corpo do indivíduo vivo, são mantidos em posição por fortes feixes fibrosos, os ligamentos, e são movimentados pelos músculos que neles se fixam (DANGELO, FATTINI, 2008; GRAY, 1977).

As aulas práticas são de grande importância para o ensino de disciplinas ligadas a conteúdos mais complexos, já que essas aulas despertam os discentes e os mantêm interessados, desenvolve a criticidade, auxilia no desenvolvimento da capacidade de resolver problemas, compreender conceitos básicos e desenvolver habilidades (KRASILCHIK, 2008).

Na atualidade, as instituições de ensino superior estão em busca de métodos inovadores e a utilização de recursos didáticos apropriados para facilitar o processo de ensino-aprendizagem. Esses métodos alternativos auxiliam na mediação dos conhecimentos em anatomia humana e tornam-se um recurso facilitador da compreensão e fixador de temas em morfologia (CAMPUS NETO et al., 2008; VERRI et al., 2008). Um método inovador e alternativo que se pode utilizar são os modelos didáticos. Estes são modelos anatômicos representados por estruturas tridimensionais ou semi-planas, coloridas que facilitam o processo de ensino e aprendizagem. (AGUIAR, 2003).

A utilização dessas metodologias inovadoras deve ser enfatizada, pois a obtenção de peças cadavéricas humanas para fins de estudos e pesquisas é dificultada em virtude da legislação vigente no país. Diante dessa dificuldade, percebe-se que a utilização desses materiais didáticos é de grande importância, já que facilita o entendimento das aulas teóricas e a realização de aulas dinâmicas que estimulam o interesse dos alunos. Desta forma, permite que os discentes formem uma imagem mais próxima das estruturas dinâmicas reais, como também se torna uma alternativa interessante para aplicação, tanto no ensino médio como no ensino superior nos cursos que dispõem a disciplina anatomia humana, como também pode ser aplicado para um melhor desenvolvimento das habilidades do professor em formação (FREIRE, 1996; RODRIGUES, 2005; JUSTINA; FERLA, 2006; FREITAS et al., 2008; ORLANDO et al., 2009). Assim, objetivou-se nesse trabalho avaliar qualitativamente modelos didáticos ósseos de resina desenvolvidos para o ensino de anatomia humana.

2 Material e Métodos

2.1. Local

O presente trabalho foi realizado na Área de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco e nas Instituições Federais de Ensino Superior do Recife.

2.2. Amostra

Foram utilizados modelos didáticos ósseos de resina confeccionados na Área de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os modelos didáticos são dos ossos: da clavícula, escápula, úmero, rádio e ulna (Figura 1).

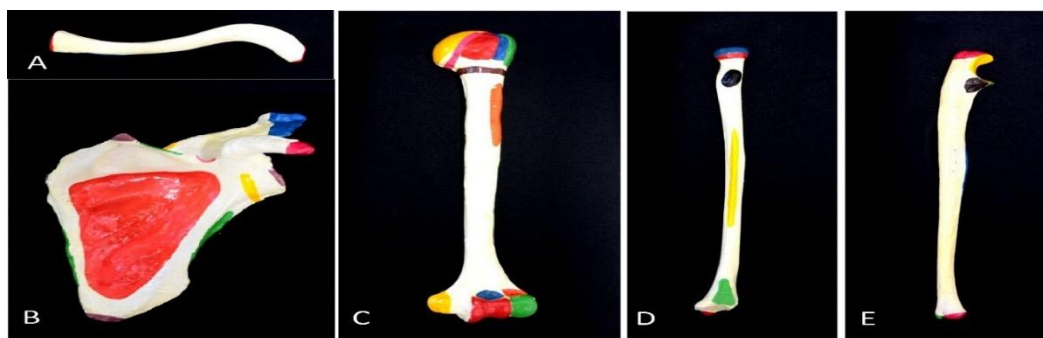


Figura 1 Modelos Didáticos Ósseos de Resina, A. clavícula, B. escápula,
C. úmero, D. rádio, E. ulna

Também participaram do presente trabalho docentes do curso de Licenciatura em Educação Física da mesma universidade, como também docentes da disciplina de Anatomia Humana de Instituições Federais de Ensino Superior do Recife.

2.3. Avaliação Quanto à Qualidade e Aplicabilidade dos Modelos Didáticos

A avaliação dos modelos didáticos de resina foi realizada através de um questionário elaborado a respeito da qualidade de reprodução da morfologia óssea e da sua aplicabilidade nas aulas de Anatomia Humana. Este questionário foi aplicado aos discentes da disciplina Anatomia Humana do curso de Licenciatura em Educação Física da UFRPE e a docentes da mesma disciplina das Instituições Federais de Ensino Superior do Recife. Em seguida, os dados presentes nos questionários respondidos foram tabulados com auxílio de software Excel for Windows 2010 e analisados estatisticamente.

2.4. Análise Estatística Descritiva

A análise estatística foi realizada através de uma descrição em percentuais das categorias avaliadas no questionário.

3 Resultados e Discussão

O presente trabalho conseguiu a participação de 10 docentes da disciplina de anatomia humana e de 48 discentes do Curso de Licenciatura em Educação Física da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

A pesquisa com os discentes apresentou um resultado excelente para os critérios de apresentação estética, qualidade do material, facilidade de manuseio, durabilidade (resistência) e reprodutibilidade óssea de todos os modelos didáticos de resina produzidos. Resultado advindo da qualidade e da capacidade de reprodução da resina, permitindo que os modelos artesanais apresentassem uma fidedignidade ao osso cadavérico.

Na avaliação dos modelos pelos Docentes, todos os critérios obtiveram resultados ótimos, o que indica a ótima qualidade que os modelos possuem. Todos os professores apresentaram muita satisfação em relação aos modelos didáticos, principalmente quanto à textura e à reprodutibilidade óssea. Inclusive, questionando a confecção de mais modelos das demais regiões do membro superior, incluindo a mão, e demais partes do corpo humano. Assim como, houve professores que indagaram a possibilidade da reprodução de peças molhadas.

Melo (2013) com um trabalho semelhante de confecção de modelos ósseos, porém utilizando gesso, encontrou resultados similares em sua avaliação com os docentes da disciplina Anatomia Humana, para quase todos os critérios, com exceção do critério durabilidade, obtendo o conceito regular por cerca de 38,10% a 42,86%, dos docentes

por alegarem a possibilidade de quebra dos modelos durante a sua utilização em aulas práticas, colocando em dúvida a resistência do gesso em uma aula prática onde os alunos comumente derrubam os ossos no chão ou batem com os mesmos, constantemente, sobre a mesa. Assim, fica constatado que o material utilizado, neste trabalho, a resina, é um material melhor, já que foi avaliado como ótimo (70%) no critério durabilidade (resistência) pelos docentes.

Em relação à utilização desses modelos em suas aulas, 90% dos docentes afirmaram que utilizariam os modelos nas disciplinas gerais e não intervencionistas devido à sua fidedignidade, mas caso a disciplina demandasse mais detalhamentos não utilizariam. Tal afirmação se fez devido à opinião de diversos docentes que as peças cadavéricas jamais deveriam ser substituídas. No entanto, os modelos didáticos de resina são ótimos para disciplinas não específicas. Apenas 10% dos docentes expressaram que não utilizariam os modelos em suas aulas, já que as disciplinas que ministram são muito específicas e os cursos são intervencionistas. Entretanto, estes docentes relataram a excelente qualidade dos modelos e o seu uso em disciplinas gerais.

A eficácia da utilização de modelos didáticos para o processo de aprendizagem dos discentes foi relatado por Freitas et al. (2008), onde confeccionaram modelos para aulas da disciplina de embriologia e também submeteram estes modelos à avaliação de docentes, obtendo resultados excelentes quanto à possibilidade da mediação do aprendizado junto aos alunos. Da mesma forma, no trabalho em questão, os docentes apresentaram enorme satisfação com a qualidade dos modelos. Tal aprazimento pode ser devido ao material sintético utilizado (resina), o que ameniza a aversão que muitos estudantes possuem ao verem as peças cadavéricas. Além disso, os modelos possuem os acidentes ósseos destacados com cores variadas, excelente reprodutibilidade óssea, facilidade de manuseio, facilidade de confecção e aquisição. Tais características corroboram com o estudo de Aguiar (2003) que ressaltam que modelos didáticos representados por estruturas tridimensionais ou semi-planas e coloridas facilitam o processo de ensino e aprendizagem. Os docentes ainda relataram que tais peças ósseas de resina podem ser uma excelente opção para que os discentes possam estudar em horários alternativos. Este relato corrobora com Matos et al. (2009), onde afirmam que modelos didáticos, além de poderem ser confeccionados pelos alunos, também podem ser utilizados em atividades extraclasse.

A avaliação dos modelos pelos discentes do curso de Educação Física também foi muito satisfatória, pois para quase todos os critérios, os modelos foram avaliados como ótimo, exceto o critério qualidade do material utilizado, onde 48% dos discentes avaliaram como Bom e 46% como ótimo. Isso ocorreu, provavelmente, devido à falta de conhecimento de muitos à cerca da resina utilizada. Todavia, todos elogiaram bastante a confecção dos modelos, afirmando que a apresentação estética chamava a atenção e inclusive aguçava o prazer de estudá-los. Algo que também foi comprovado por Setúval e Bejarano (2008), onde os argumentos trazidos pelos estudantes, em relação ao aspecto visual dos modelos, auxiliou a mediação dos conteúdos da disciplina de genética, sendo forte indicativo de que os modelos didáticos são um bom recurso para promover a socialização de um determinado assunto.

Os discentes, sem exceção, relataram que a utilização desses modelos seria de grande importância para o estudo da Osteologia, visto ser um conteúdo que os discentes sentem mais dificuldade no seu aprendizado e que tais modelos podem propiciar uma aula mais

dinâmica. Da mesma forma, Orlando et al. (2009), utilizando modelos com abordagem para biologia celular e molecular, relataram que o estudo a partir dos modelos didáticos é um processo mais dinâmico, prazeroso, que traz mais facilidade de fazer associações com o cotidiano. Molinari et al. (1999) e Melo et al. (2002), também afirmam que modelos didáticos acabam por permitir que o aluno construa o conhecimento sobre o objeto de estudo e a diversidade do material didático facilita o aprendizado, tornando as aulas práticas mais dinâmicas, produtivas e atrativas, estimulando o discente. Então, verificamos a partir desse estudo a importância do desenvolvimento e utilização de modelos didáticos ósseos, pois fornecem uma alternativa viável e com qualidade atestada por profissionais da área de anatomia e por estudantes, para aulas práticas de osteologia proporcionando uma nova abordagem didática de auxílio.

4 Agradecimentos e apoios

Gostaria de agradecer a todos os docentes e discentes que aceitaram participar da pesquisa, como também ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, pela permissão da realização de uma parte dessa pesquisa em suas dependências.

5 Referências

- AGUIAR, L.L.C. Modelos biológicos tridimensionais em porcelana fria – alternativa para a confecção de recursos didáticos de baixo custo. In: II ENCONTRO REGIONAL DE ENSINO DE BIOLOGIA, 2003, Niterói. **Anais II Encontro Regional De Ensino De Biologia**. Niterói, 2003. p. 318-321
- CAMPUS NETO, F. H. C.; MAIA, N. M. F. e S.; GUERRA, E. M. D. A experiência de ensino da anatomia humana baseada na clínica. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, 2008, Fortaleza: Universidade Metropolitana de Fortaleza. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Anatomia**, Fortaleza: Universidade Metropolitana de Fortaleza, 2008.
- DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana básica**. São Paulo: Atheneu, 2010.
- DANGELO, J.G.; FATTINI, C.A. **Anatomia Humana Básica**. São Paulo: Atheneu, 2008.
- FREIRE, P. **Pedagogia da autonomia: saberes necessários á prática educativa**. São Paulo: Paz e Terra, 1996.
- FREITAS, L.A.M. et. al. Construção de modelos embriológicos com material reciclável para uso didático. **Biosci. J.**, v. 24, n. 1, p. 91-97, 2008.
- GRAY, H. **Gray Anatomia**. 29ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.

JUSTINA, L.; FERLA, M. R. A utilização de modelos didáticos no ensino de genética: exemplos de representação de compactação do DNA eucarioto. **Arquivo Mundial**, v.10, n.2, p.35-40, 2006.

KRASILCHIK, M. **Prática de Ensino de Biologia**. São Paulo: Edusp, 2008.

MATOS, C.H.C, OLIVEIRA, C.R.F., SANTOS, M.P.F., FERRAZ, C.S. Utilização de Modelos Didáticos no Ensino de Entomologia. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v.9, n.1, 2009

MELO S. R., RIBEIRO A.M., ESQUARCINI S.D.G., CONEGERO C.I., STABILLES.R.. Preparação de material biológico para aulas teórico-práticas de Biologia no Ensino Fundamental e Médio. **Arq Apadec**. v. 6, n. 2, p. 45-6, 2002.

MELO, A. L. F. D. **Modelos ósseos artesanais: uma nova abordagem didática**. Trabalho de conclusão de Licenciatura em Ciências Biológicas, UFRPE, PE, 2013.

MOLINARI S.L., MONTEIRO A.S., MIRANDA-NETO MH. Práticas para abordar o tema sistema esquelético. **Arq Apadec**. V. 3, n. 2, p. 36-40, 1999.

ORLANDO, T. C.;LIMA, A. R. ; SILVA, A. M.; FUZISSAKI, C. N.; RAMOS, C. L.; MACHADO, D.; FERNANDES, F. F.; LORENZI, J. C. C.; LIMA, M. A.; GARDIM, S.; BARBOSA, V. C.; TRÉZ, T. A. Planejamento, montagem e aplicação de modelos didáticos para abordagem de biologia celular e molecular no ensino médio por graduandos de ciências biológicas. **Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular**, Minas Gerais, v.1, n.1, p 1-17, 2009.

QUEIROZ, C.A.F. **O uso de cadáveres humanos como instrumento na construção de conhecimento a partir de uma visão bioética**. 2005. [Dissertação Mestrado] em Ciências Ambientais e Saúde Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Saúde, UCG, Goiás. Disponível em <http://tede.biblioteca.ucg.br>. Acesso em 25 de Novembro de 2014.

RODRIGUES, H. **Técnicas anatômicas**. Vitória: Própria, 2005

SALING, S. C. **Modelos didáticos: uma alternativa para o estudo de anatomia**. Paraná, 2007.

SETÚVAL, F. A. R.; BEJARANO, N. R. R.. Os Modelos Didáticos Com Conteúdos de Genética e a sua Importância na Formação Inicial de Professores para o Ensino de Ciências e Biologia. In: ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO

EM CIÊNCIAS. 2008, Florianópolis. **Anais do encontro nacional de pesquisa em educação em ciências**, Florianópolis, 2008.

SILVA, M.S.L; MACHADO, H.A.; BIAZUSSI, H.M. Produção de Material Didático Alternativo para Aula Prática de Anatomia Humana. In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 2012, Tocantins. **Anais do Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**, Tocantins, 2012.

VERRI, E. D.; DEIENNO, F. S.; SAMPAIO, M. G. E.; GOMES, O. A. Análise comparativa da metodologia de estudo para o ensino e aprendizagem de anatomia entre ABP/tradicional. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, 2008, Ribeirão Preto: UNAERP. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Anatomia**, Ribeirão Preto: UNAERP, 2008.

AVALIAÇÃO DO EXTRATO DE FOLHAS DE AROEIRA-VERMELHA (*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*) QUANTO À PRESENÇA DE LECTINAS E SEU EFEITO NA SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE TRAÇA-DAS-BRÁSSICAS (*PLUTELLA XYLOSTELLA*)

Pedro Ricardo da Costa Silva¹; Welton Aaron de Almeida^{1,2}; Erasmo Guilherme dos Santos Neto¹; Camila Azevedo Ferreira¹; Giovanna Moraes da Silva¹; Emmanuel Viana Pontual¹

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE, Recife/PE. ²Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Recife/PE.
E-mail: pedro.rsilvaa@hotmail.com

Resumo

Plutella xylostella é uma das 20 principais pragas de brássicas em todo o mundo. A principal medida contra sua proliferação ainda é o uso intensivo de inseticidas, porém, essa utilização causa danos aos cultivos e ao ambiente. A utilização de extratos vegetais, como inseticidas naturais, representa uma alternativa mitigadora para o controle de pragas. *Schinus terebinthifolius* é utilizada na medicina popular por suas propriedades biológicas, destacando-se sua atividade inseticida. Este trabalho teve por objetivo avaliar o extrato salino de folhas de *S. terebinthifolius* quanto à presença de lectinas e efeito na sobrevivência de larvas de *P. xylostella*. Proteínas presentes no extrato adsorveram em coluna de quitina e, após eluição com ácido acético, apresentaram alta atividade hemaglutinante, caracterizando a presença de lectina. O extrato de folhas foi tóxico para larvas de *P. xylostella* por causar mortalidade e reduzir a emergência de pupas e adultos.

Palavras chave: lectina, aroeira-vermelha, larvicida natural, praga agrícola.

1 Introdução

A espécie *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: *Plutellidae*), popularmente conhecida como traça-das-brássicas (TDB), possui um ciclo de vida curto, alta taxa de fecundidade (Ulmer *et al.*, 2002) e ampla adaptabilidade a diferentes tipos de habitats (Crema & Castelo Branco, 2004). Essas características elencam a TDB como uma das 20 principais pragas de cultivos de brássicas em todo o mundo (Oliveira *et al.*, 2011).

Os produtores acreditam que a medida mais eficaz para conter a proliferação de TDB ainda é a utilização intensiva de inseticidas (Castelo Branco *et al.*, 2003). Entretanto, este uso indiscriminado e inadequado, bem como as pulverizações frequentes podem resultar na seleção de populações de pragas mais resistentes (Castelo Branco & Melo, 2002; Oliveira *et al.*, 2011), contaminação dos recursos hídricos, e produção de resíduos

tóxicos para o homem (Almeida *et al.*, 1999).

Tendo em vista os danos ambientais provenientes do uso de inseticidas sintéticos, a utilização de extratos vegetais como inseticidas naturais representa uma alternativa mitigadora, principalmente em pequenas áreas de cultivo (Dequech *et al.*, 2008).

Lectinas são proteínas de origem não imunológica presentes nos mais diversos tipos de organismos, capazes de se ligar reversivelmente a carboidratos, podendo causar aglutinação de células adjacentes (Moddy *et al.*, 1995). A grande diversidade estrutural, a especificidade e as características da ligação com os carboidratos, conferem a estas moléculas a habilidade de participar de diversos processos biológicos (Sell & Costa, 2000; Tagliari *et al.*, 2004).

A espécie *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), conhecida como aroeira-vermelha, é utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças respiratórias e inflamatórias (Albertasse *et al.*, 2010), além de possuir efeito cicatrizante, antimicrobiano e antiulcerogênico (Carvalho *et al.*, 2013). Embora diversos estudos acerca de suas propriedades biológicas já tenham sido descritos, pouco se sabe a respeito de seus constituintes químicos e essa caracterização é importante, pois, contribui com o arsenal de compostos bioativos de plantas, inclusive com potencial inseticida (Santos *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2013).

Nesse sentido o presente trabalho investigou o extrato salino de folhas de *S. terebinthifolius* (ESFSt) quanto à presença de lectinas e efeito na sobrevivência de larvas de *P. xylostella*, afim de colaborar com o desenvolvimento de produtos de origem vegetal eficientes no controle desta praga.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção do extrato de folhas de *S. Terebinthifolius*

O extrato de folhas de *S. terebinthifolius* foi obtido segundo o protocolo previamente descrito por Procópio *et al.* (2015). As folhas foram coletadas em Recife, Pernambuco e colocadas para secar a 28°C durante 4 dias. Após trituras das folhas, a farinha obtida (10 g) foi homogeneizada com solução de NaCl 0,15 M (100 mL) durante 16 h a 28°C, em agitador magnético. Após filtração e centrifugação (9000 rpm, 15 min) o sobrenadante foi coletado e dialisado (4 h) contra água destilada, correspondendo ao extrato de folhas. Em seguida, o extrato foi liofilizado e ressuspendido em NaCl 0,15 M para obter uma solução estoque de concentração 2,0% (peso seco/volume).

2.2 Ensaio de atividade hemaglutinante

A atividade hemaglutinante de ESFSt foi avaliada em placas de microtitulação, de acordo com Napoleão *et al.* (2012), utilizando eritrócitos de coelho tratados com glutaraldeído a 2,5% v/v. O valor da atividade hemaglutinante correspondeu ao inverso da menor diluição da amostra que causou hemaglutinação.

2.3 Efeito do extrato de folhas de *S. terebinthifolius* sobre larvas de *P. xylostella*

Larvas de *P. xylostella* foram obtidas a partir de uma cultura mantida em folhas de couve, em condições controladas ($26 \pm 1^\circ \text{C}$; fotoperíodo de $11 \pm 0,5 \text{ h}$; 65-70% de

umidade relativa), no Laboratório de Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Larvas no segundo ínstar foram utilizadas nos bioensaios. Ensaios de toxicidade por ingestão foram realizados.

Os ensaios de toxicidade por ingestão foram realizados de acordo com Lingathurai *et al.* (2010). Discos de folhas de couve frescas (3 cm de diâmetro) foram perfurados com uma agulha e imersos em ESFSt (0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%, m/v) ou em NaCl 0,15 M (controle). Após secagem ao ar durante 40 min, um disco de folha tratado foi colocado numa placa de petri e dez larvas de *P. xylostella* no segundo ínstar (sem alimentação por 4 h) foram introduzidas na placa. Após 24 h de incubação, as larvas foram continuamente mantidas alimentadas com folhas de couve não tratadas, trocadas a cada 24 h. A mortalidade das larvas foi acompanhada até 96 h após o tratamento. Cada teste foi replicado cinco vezes.

2.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos como Média $\pm$ Desvio padrão e as diferenças significativas em relação ao controle foram determinadas pelo teste T de Student ($p < 0,05$).

3 Resultados e Discussão

ESFSt foi capaz de causar aglutinação dos eritrócitos de coelho com atividade específica de 28.000, revelando a presença de lectina no extrato. Esse resultado está de acordo com aqueles previamente publicados por Gomes *et al.* (2012). Esses autores demonstraram que SteLL apresenta potente atividade antimicrobiana contra bactérias de importância médica.

Lectinas têm sido reportadas como potenciais inseticidas. Nesse sentido, ESFSt rico em lectinas foi avaliado, no presente trabalho, como agente inseticida contra *P. xylostella*. Essa investigação foi também estimulada pelos relatos prévios da atividade inseticida de ESFSt contra larvas de *A. aegypti*. O bioensaio larvicida revelou que o extrato nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% (m/v) foi capaz de reduzir a população de larvas de *P. xylostella*, alterando a taxa de sobrevivência durante o período de observação (Figura 1). A viabilidade de larvas e pupas é apresentada na Tabela 1.

A viabilidade larval foi determinada em função de quantas larvas sobreviveram a cada tratamento no período de 96 h, após as quais foi registrada uma viabilidade mínima de 58% para larvas tratadas com ESFSt a 2%. Foi detectada também mortalidade de pupas, sendo esse resultado expresso com relação ao número de adultos emergidos em relação à quantidade de larvas no início do teste. Esses resultados sugerem que ESFSt contém moléculas que podem prejudicar o desenvolvimento de *P. xylostella*. Segundo Jesus *et al.* (2011), extratos de plantas são promissores fontes de moléculas tóxicas para insetos.

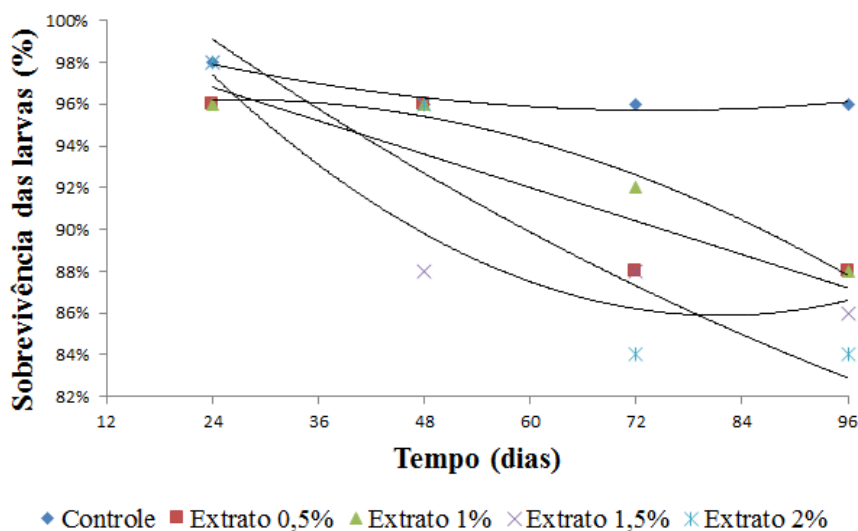


Figura 1. Efeito do extrato de folhas de *S. terebinthifolius* na sobrevivência de larvas de *P. xylostella*.

Amostra	Viabilidade de larvas*	Viabilidade de pupas**
Controle	86 ± 0,05% ^a	86 ± 0,05% ^A
ESFSt		
0,5%	72 ± 0,08% ^b	43 ± 0,17% ^B
1%	82 ± 0,19% ^a	48 ± 0,26% ^C
1,5%	70 ± 0,18% ^c	49 ± 0,13% ^C
2%	58 ± 0,08% ^d	41 ± 0,16% ^B

Tabela 1. Efeito do extrato de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a viabilidade de larvas e pupas de *P. xylostella*. * Percentual de larvas que chegaram ao estágio de pupa. ** Percentual de larvas que emergiram como adultos. Letras diferentes indicam diferenças significativas determinadas pelo teste T de Student ($p < 0,05$).

Em conclusão, estes resultados revelaram que o extrato de folhas de *S. terebinthifolius* é tóxico para *P. xylostella* por causar mortalidade de larvas e reduzir a emergência de pupas e adultos. A atividade de lectina no extrato pode estar relacionada com seu efeito larvívico.

4 Agradecimentos e apoios

À FACEPE, CAPES e CNPq pelo incentivo à pesquisa.

5 Referências

- ALBERTASSE, P.D.; THOMAZ, L.D.; ANDRADE, M.A. **Plantas medicinais e seus usos na comunidade da Barra do Jucu**, Vila Velha, ES. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.12, n.3, p.250-260, 2010.
- ALMEIDA, F.A.C.; GOLDFARB, A.C.; GOUVEIA, J.P.G. **Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de *Sitophilus spp.*** Rev. Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.1, n.1, p.13-19, 1999.
- CARVALHO, M.G.; MELO, A.G.N.; ARAGÃO, C.F.S.; RAFFIN, F.N.; MOURA, T.F.A.L. ***Schinusterebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity**, Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.15, n.1, p.158-169, 2013.
- CASTELO BRANCO, M. E MELO, C.A. **Resistência a abamectin e cartap em populações de traça-das-crucíferas**, Horticultura Brasileira, Brasília, v. 20, n. 4, p. 541-543, 2002.
- CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F.H. ; PONTES, L.A. ; AMARAL, P.S.T. **Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações da traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil**, Hortic. bras., v. 21, n. 3, 2003.
- CREMA, A. E CASTELO BRANCO, M. **Impacto da temperatura e fotoperíodo no desenvolvimento ovariano e oviposição de traça-das-crucíferas**, Hort.Bras., Brasília, v.22, n.2, p.305-308, 2004.
- DEQUECH, S.T.B.; SAUSEN, C.D.; EGEWARTH, C.G.L.F. **Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microthea ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório**, Rev. Biotemas, v.21, n.1, 2008.
- JESUS, F.G. DE; PAIVA, L.A. DE; GONÇALVES, V.C.; MARQUES, M.A.; BOIÇA JUNIOR, A.L. **Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)**, Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.78, n.2, p.279-285, 2011
- GOMES, F.S.; PROCÓPIO, T.F.; NAPOLEÃO, T.H.; COELHO, L.C.B.B.; PAIVA, P.M.G. **Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf**, Journal of applied microbiology, n.114, p.672-679, 2012
- LINGATHURAI, S.; VENDAN, S.E.; PAULRAJ, M.G.; IGNACIMUTHU, S. **Antifeedant and larvicidal activities of *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbiaceae) against *Plutellaxylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) larvae**, J. King Saud Univ. Sci. n.23, p.11–16, 2011.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. **Protein measurement with the folin phenol reagent**, J. BiolChem, n.193, p. 265–275, 1951.
- MODY, R.; JOSHI, S.; CHANEY, W. **Use of lectins as diagnostic and therapeutic tools for cancer**, Journ. of Pharmacol. and Toxicologic. Methods n.33, p.1-10, 1995.
- NAPOLEÃO, T.H.; PONTUAL, E.V.; LIMA, T.A.; SANTOS, N.D.L.; SÁ, R. A.; COELHO, L.C.B.B.; NAVARRO, D.M.A.F.; PAIVA, P.M.G. **Effect of *Myracrodruonurundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae**, Parasitol Res, n.110, p. 609-616, 2012.
- OLIVEIRA, A.C.; SIQUEIRA, H.A.A.; OLIVEIRA, J.V.; SILVA, J.E.; FILHO, M.M. **Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides**, Sci. Agric. Piracicaba, v.68, n.2, p.154-159, 2011.

PROCÓPIO, T.F.; FERNANDES, K.M.; PONTUAL., E.V.; XIMENES, R.M.; OLIVEIRA, A.R.C.; SOUZA, C.S., MELO, A.M.M.A.; NAVARRO., D.M.A.F.; PAIVA, P.M.G.; MARTINS, G.F., NAPOLEÃO, T.H. ***Schinus terebinthifolius* leaf extract causes midgut damage, interfering with survival and development of *Aedes aegypti* larvae**, PONE, n.10, 2015.

SANTOS, M.R.A.; LIMA, R.A.; FERNANDES, C.F.; SILVA, A.G.; LIMA, D.K.S.; TEIXEIRA, C.A.D.; FACUNDO, V.A. **Atividade Inseticida do Óleo Essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman**, Revista Fitos v.3, n.1, 2007.

SELL, A.M. E COSTA, C.P. **Atividades biológicas das lectinas PHA, WGA, jacalina e artocarpina**, Acta Scientiarum n.22 p.297-303, 2000.

TAGLIARI, M.S.; KNAACK, N.; FIUZA, L.M. **Plantas inseticidas: interações e compostos**, Pesq. Agrop. Gaúcha, Porto Alegre, v.10, n.1-2, p. 101-111, 2004.

ULMER, B.; GILLOTT, C.; WOODS, D.; ERLANDSON, M. **Diamondback moth, *Plutellaxylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines**, Crop Protection, v. 21, 2002.

BISFENOL-A E SUA RELAÇÃO COM POSSÍVEIS DANOS A SAÚDE HUMANA

**Tamiris Maria da Silva¹, Dayane de Lima Rocha², Lucilo Bioni da Fonsêca Filho³,
Lourival Barros de Sousa Brito Pereira⁴, Vitória Yuki Endo⁵, Júlio César dos
Santos Nascimento⁶**

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

2 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

3 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

4 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

5 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

6 Professor em Centro Universitário Maurício de Nassau

Email: mariatamiris92@gmail.com

Resumo

O bisfenol -A (BPA) é um composto químico muito utilizado na indústria. Esse componente é utilizado na fabricação de plásticos e resinas epóxi. Os plásticos e resinas produzidas com BPA são utilizados para a produção recipientes com diferentes aplicações, como pode ser; recipiente de alimentos e bebidas, utensílios de mesa, papel térmico e dispositivos usado no campo da medicina, etc. Os seres humanos estão expostos de maneira habitual, sendo a exposição através da dieta (embalagens de alimentos e bebidas), fonte considerada mais de maior risco. Os materiais permanecem em contato com os alimentos, sendo uma chave de contaminação, por essa razão, o uso de BPA deve ser avaliado e regulamentado.

Palavras chave: embalagens, plásticos, saúde pública, segurança alimentar

1 Introdução

A substância denominada popularmente como Bisfenol-A (2,2-bis(4-hidroxifenil)propano, é comumente utilizada na indústria. O Bisfenol-A (BPA) é obtido pela condensação de duas moléculas de fenol com uma de acetona, essa reação é catalisada por um ácido, como o ácido clorídrico ou resina poliestireno sulfonada (Vandenberg et al., 2009). O BPA é utilizado principalmente na produção de policarbonato e resinas epóxi (Mileva et al., 2014). O policarbonato e as resinas epóxi são materiais utilizados para a produção de embalagens e recipientes destinados a entrarem em contato com os alimentos e bebidas. O policarbonato é um polímero que apresenta alta transparência, resistência térmica e mecânica, por essas características é largamente utilizado como adjunto de materiais plásticos em diversas utilidades como produção de mamadeiras; brinquedos; utensílios domésticos; embalagens retornáveis de água; cervejas e refrigerantes; frascos para alimentos infantis ou ainda na área farmacêutica em resinas de implantes médicos e dentários (EuropeanComission, 2011 e Fontenele et al 2010). As resinas epóxi são obtidas a partir do Bisfenol-A e são utilizadas em revestimentos internos de embalagens metálicas de alimentos, como latas de conserva, latas de refrigerante, óleo e leite em pó (Erickson, 2008).

O BPA apresenta diferentes maneiras de alcançar o organismo, ou seja, vias de exposição diferentes, são elas: via oral, por inalação e cutânea. As fontes mais importantes de exposição são por meio de alimentação, água, poeira, contato com papel térmico, materiais e dispositivos dentários ou equipamentos médicos (Geens et al., 2012). Sendo os alimentos enlatados a principal fonte de contaminação (Lorber et al., 2015). No ano de 2015, a Agência Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), realizou uma avaliação da exposição alimentar ao BPA. As concentrações mais elevadas de BPA foram encontradas em alimentos embalados, comparado aos alimentos não embalados, onde a média da amostra avaliada era 18,68 µg/kg e 1,5 µg/kg de BPA respectivamente. As categorias de alimentos embalados onde eles observaram as maiores concentrações de BPA foram cereais, legumes, carne, peixe, especiarias, alimentos preparados, lanches e sorvetes. Estas categorias atingiram valores acima de 30 µg/kg da substância. Entre os alimentos não embalados, as carnes e os pescados apresentam as maiores concentrações de BPA, com valores de 9,4 µg/kg e 7,4 µg/kg de BPA respectivamente. Uma estimativa da quantidade de BPA dietético em grupos populacionais de diferentes faixas etárias também foi realizada. Os resultados mostraram níveis mais elevados de BPA em bebês e crianças (EFSA, 2015). Segundo Moya (2014), os fetos, bebês e crianças apresentam mais riscos frente a exposição de BPA, uma vez que o processo de desenvolvimento e crescimento do organismo é mais suscetível aos efeitos do BPA.

A possibilidade de migração dessa substâncias para os alimentos e bebidas levantaram dúvidas quanto à segurança em sua utilização, o que abriu a discussão sobre o assunto em diversos países, demandando posicionamento de órgãos reguladores. A partir de 1990 essa discussão tornou-se mais forte, levantando a hipótese que pequenas quantidades de Bisfenol-A no organismo humano, provenientes de materiais que entraram em contato com alimentos, poderiam causar efeitos na saúde humana,

principalmente devido a alterações hormonais, essa hipótese ficou conhecida como “Hipótese da baixa dosagem”, pois os efeitos eram observados a partir de baixas concentrações da substância no organismo (WhatsNew, 2006). As publicações acerca do tema apresentam polêmica quanto aos efeitos dessa substância para a saúde humana, demonstrando os diferentes pontos de vista defendidos em prol e contra o uso deste composto, uma vez que o BPA é utilizado em grande parte das embalagens destinadas a alimentos. Esse assunto tem sido alvo por parte da comunidade científica e órgãos regulamentadores, desde o banimento do seu uso até o estabelecimento de um limite máximo admissível que não represente risco à saúde humana (Gatti, 2009).

O valor da dose diária tolerável (IDT) de BPA foi modificada no último relatório da EFSA em 2015, e passou de 50 µg/kg de peso corporal dia para 4 µg/kg de peso corporal dia. (EFSA, 2015) No Brasil, a resolução RDC n.º 17 determina o valor de limite de migração máximo permitido em embalagens para alimentos e bebidas de 0,6 mg/kg. Por precaução, alguns países, inclusive o Brasil, optaram por proibir a importação e fabricação de mamadeiras que contenham Bisfenol-A, considerando a maior exposição e susceptibilidade dos indivíduos usuários deste produto. Esta proibição está vigente desde janeiro de 2012 e foi feita por meio da Resolução RDC n. 41/2011. Assim, mamadeiras em policarbonato não podem ser comercializadas no Brasil (ANVISA).

2 Metabolismo e mecanismo de ação

O BPA é rapidamente metabolizado no fígado, tornando-se um metabólito muito solúvel, o BPA-glucuronido (BPA-GLU) (Völkel et al., 2002). Uma quantidade menor de BPA reage com sulfato, dando origem ao BPA-Sulfato (Geens et al., 2012). A conjugação de BPA é considerado um processo de desintoxicação (Matthews et al., 2001), este é removido de forma eficiente na urina. Após a exposição oral, o BPA livre é muito biodisponível, demonstrando assim a eficácia do metabolismo hepático (EFSA, 2008). O conjugado BPA apresenta atividade estrogênica, por isso, quando BPA é metabolizado, apenas uma pequena quantidade de BPA livre pode ligar-se a receptores de estrogênio (ER) produzindo alterações hormonais e os consequentes efeitos adversos (Mileva et al., 2014). O mecanismo de ação do BPA varia dependendo da dose, o tecido e a etapa de exposição (VomSaal et al., 2007). Como dito anteriormente, o BPA é um composto que apresenta atividade estrogênica, alguns estudos revelaram que o BPA é um potente estrogênio sintético, tendo a capacidade de alterar as respostas celulares em diferentes tecidos e mediante diferentes mecanismos de ação, em doses muito baixas (Alonso-Magdalena et al., 2012). Como um estrógeno não esteroide, ele interfere com a ligação de 17 β-estradiol ao seu receptor nos tecidos-alvo. Contudo, as atividades interferentes endócrinas primárias do BPA estendem-se além da sua capacidade de mimetizar, amplificar ou inibir a atividade de estrógenos endógenos e/ou de interferir na ação do receptor nuclear de estrógeno e incluem: efeitos androgênicos, no metabolismo,

na função tireoidiana, na diferenciação e função do sistema nervoso central, no desenvolvimento e no sistema imune (Wetherill et al., 2007).

3 Riscos à saúde humana

De acordo com Dupont (2011) doses baixas de Bisfenol-A têm efeitos adversos sobre a fertilidade, o sistema nervoso, diabetes, câncer, obesidade, puberdade precoce, comportamento, doenças cardíacas etc. O BPA é considerado um disruptor endócrino (DE), “substâncias exógenas ao organismos que se encontram no meio ambientes, nos alimentos e produtos destinados aos consumidores, que interferem com a biossíntese de hormônios, o metabolismo e ações resultantes destes, causando uma alteração na homeostasia do indivíduo exposto” (Diamanti-Kandarakis et al., 2009). É importante destacar que os efeitos mais graves dos DE e BPA são vistos em crianças, cujo as mães foram expostas durante a lactação, por isso muitos estudos focam na avaliação da exposição pré-natal e os efeitos adversos em crianças. (Braun et al., 2011). Em sua pesquisa, Chevrier (2013) realizou o acompanhamento de gestantes e também de seus bebês logo após o nascimento. Os resultados sugeriram que a exposição ao BPA durante a gravidez está relacionada à redução do T4 total em mulheres grávidas e ao TSH diminuído em neonatos masculinos.

Um outro estudo teve como objetivo associar a exposição ao BPA com o aumento na incidência de doença cardiovascular, AVC, diabetes, artrite, asma, DPOC, câncer, hepatopatia e tireoidopatia, Lang e cols. avaliaram amostras de urina de 1.455 indivíduos entre 18 e 74 anos de idade. A concentração urinária de BPA se associou positivamente com uma maior prevalência de doença cardiovascular (DCV), diabetes e anormalidades em enzimas hepáticas mesmo após ajuste para fumo, índice de massa corporal (IMC), condição socioeconômica, educação, idade, sexo, etnia, circunferência abdominal e creatinina urinária.

4 Conclusão

Diante do exposto cabe aos fabricantes de produtos com base de BPA se prevenirem e procurarem alternativas através do desenvolvimento de novas tecnologias que venha substituir o uso do citado composto. Cabe aos órgãos públicos a função de incentivar as pesquisas que tragam, de uma vez por todas, clareza sobre esta polêmica. A sociedade por sua vez deve fiscalizar e cobrar ações que garantam a integridade física dos consumidores.

5 Agradecimentos

A todos que de alguma maneira me ajudaram com o presente trabalho fica registrado aqui o meu breve obrigado.

6 Referências

- ERICKSON, B. E. Bisphenol A under scrutiny. **Chemical and Engineering News**, 2008. European Commission. **Opinion of the scientific committee on food on Bisphenol A**. Disponível em: <<http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/indexen.html>>. Acesso em 10 de junho de 2017.
- FONTENELE, E. G. P.; MARTINS, M. R. A.; QUIDUTE, A. R. P.; MONTENEGRO J. R.M. Contaminantes ambientais e os Interferentes endócrinos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. V. 54, p. 6-16. 2010.
- GATTI, J. B. A presença de Bisfenol A proveniente de vernizes em alimentos e sua implicação na saúde, Informativo CETEA/ITAL. **Boletim de tecnologia e desenvolvimento de embalagens**, 2009.
- GEENS T. et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. **Food and chemical toxicology**, 50:3725-3740, 2012.
- LANG, I. A. et al. Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. **JAMA.**; 300(11):1303-10, 2008
- LORBER, M.; SCHECTER, A.; PAEPKE, O.; SHROPSHIRE, W.; CHRISTENSEN, K.; BIMBAUM, L. Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. **Environment international**. 77:55-62. 2015.
- MOYA J.; BEARER C. F.; ETZEL, R. A. Children's behavior and physiology and how it affects exposure to environmental contaminants. **Pediatrics**. 113:996–1006. 2004.
- MILEVA, G.; BAKER, S. L.; KONKLE, A.; BIELAJEW C. Bisphenol-A: epigenetic reprogramming and effects on reproduction and behavior. **International journal of environmental research and public health**. 11:7537-7561. 2014.
- VANDENBERG, L. N. et al. Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses. **Endocrine Reviews**. 33:378. 2012.
- WHATS NEW - **Low risk to human reproductive and developmental health from low doses of Bisphenol A confirmed by new weight-of-evidence evaluation**. Disponível em: <<http://www.bisphenol-a.org/whatsNew/20060619.html>> Acesso em 10 de junho de 2017.
- WETHERILL, Y.B. et al. In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. **Reprod Toxicol.**; 24(2):178-98. 2007.

COMPORTAMENTO DO CRESCIMENTO DA PALOMBETA (*CHLOROSCOMBRUSCHRYSURUS*) CAPTURADA NA PESCA DE CURRAIS DO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO

Vívian Graziela Oliveira Carneiro¹, Victor Sacramento Dias¹, David Nunes
Aguilar Bruzaca¹, Humber Agrelli de Andrade¹

¹ Laboratório de Modelagem Estatística Aplicada, Departamento de Pesca e
Aquicultura – UFRPE, Recife, 52171-900, Brasil.
carneirovivian0@gmail.com

Resumo

A relação comprimento-peso é utilizada como importante ferramenta na pesca e no estudo da biologia dos peixes. Na pesca, é usada para gerar dados para a gestão pesqueira, informações sobre a área de manejo e manutenção de estoques pesqueiros. Este trabalho apresenta a relação comprimento-peso da palombeta (*Chloroscombruschrysurus*) coletada em quarto currais ativos em Pontas de pedra, litoral norte do estado de Pernambuco. Foram analisadas 291 espécimes com comprimento padrão entre 80 e 226mm. Os valores dos coeficientes b foram testados em relação à isometria ($b=3$) através de teste t de Student. O valor do coeficiente b variou entre 2,895–3,059, com 95% de confiança, tendo sido constatada um comportamento isométrico para a espécie estudada.

Palavras chave: comprimento, currais, isometria, morfometria, pesca, peso.

1 Introdução

As relações entre as medidas morfométricas de peixes têm sido frequentemente usadas em biologia pesqueira como ferramenta para várias finalidades. Particularmente a relação comprimento-peso pode ser utilizada para verificar a relação do crescimento com as variações sazonais (RICHTER et al., 2000), indicar o grau de hígidez de um indivíduo, refletindo as condições nutricionais recentes, possibilitando as relações com as condições ambientais e os aspectos comportamentais das espécies (VAZZOLER, 1996). Em estudos relacionados a biologia natural, a relação comprimento-peso é usada para comparar a morfometria interespecífica e intrapopulacional, e determinar o índice de bem-estar do peixe (BOLGER; CONNOLLY, 1989).

A família Carangidae inclui peixes marinhos, em sua maioria pelágicos costeiros, com grande diversidade de tamanho e forma do corpo. Dentre aqueles que apresentam alguma importância econômica, destaca-se o carangídeo *Chloroscombruschrysurus* (Linnaeus, 1766), conhecido como palombeta. A espécie habita águas litorâneas, distribui-se de Massachusetts (EUA) à Argentina, atingindo cerca de 300 mm de

comprimento(MENEZES; FIGUEIREDO, 1980; CERVIGÓN et al., 1992).

Em Pernambuco, é comum encontrar a espécie em capturas da pesca artesanal, como na pesca decurrais, que são armadilhas fixas com varas e arames estrategicamente implantado no solo de modo a aprisionar cardumes para dentro de um cercado pelo movimento das marés (PIORSKI et al., 2009). Este estudo tem por objetivo estimar a relação comprimento-peso da palombeta, fornecendo informações que contribuam para eventuais decisões futuras sobre gestão da espécie e das pescarias com currais.



Figura 1: Palombeta (*Chloroscombrus chrysurus*) FONTE: NOAA\NMFS\Mississippi Laboratory, 2008.

2 Material e Métodos

As coletas foram realizadas em quatro currais ativos localizados em Pontas de Pedras, distrito do município de Goiana no estado de Pernambuco. Ocorreram quase mensalmente entre maio de 2014 e novembro de 2016 (Tabela 1). De maneira geral, a frequência de ocorrência da palombeta nas coletas foram muito baixas, exceto para novembro e dezembro de 2015 que compôs mais de 80% do total de peixes capturados para análise. Foram analisados os dados de comprimento e peso de 291 exemplares de *Chloroscombrus chrysurus*.

Ano	Mês											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
2014	-	-	-	-	0	4	1	0	-	0	10	1
2015	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	187	49
2016	-	15	10	0	2	0	-	3	0	11	1	-

- não houve coleta.

Tabela 1: Número de palombetas (*Chloroscombruschrysurus*) coletadas para análise por mês e por ano.

A relação comprimento-peso é dada através da seguinte equação (LE CREN,1951):

$$(1) \quad P = a C^b$$

em que P é o peso total (em g); C é o comprimento padrão (em mm); a é a intercepção da curva de regressão (intercepta P quando C é zero ou coeficiente de crescimento inicial) e b é a inclinação de regressão (coeficiente indicativo de crescimento isométrico ou alométrico).

O parâmetros a e b foram estimados após transformação logarítmica:

$$(2) \quad \log(P) = a' + b' \log(C), \text{ em que } a' = \log(a) \text{ e } b' = b.$$

A relação entre comprimento e o peso corporal pode apresentar diferentes comportamentos, sendo o mais comum o crescimento isométrico, quando $b=3,0$; o peso aumenta com o comprimento elevado ao cubo. Além desse, devemos destacar quando $b < 3$, um maior incremento em comprimento do que em peso (alometria negativa) e quando $b > 3$, o incremento é devido ao peso (alometria positiva). Para verificar se o tipo de incremento em peso diferencia-se significamente do valor esperado ($b = 3$), foi utilizado o teste t de Student com nível de significância de 5%. O ajuste do modelo aos dados foi medido pelo coeficiente de Pearson R-quadrado (R^2).

3 Resultados e Discussão

O comprimento padrão variou entre 80 e 226 mm, média de 99,45 mm (Figura 2A) o peso total variou entre 8 e 144 g, média de 19,83 g (Figura 2B). O tamanho de primeira maturação da palombeta encontrado em um trabalho realizado no sul e sudeste do país foi de 115mm(MAGRO et al., 2000). Sendo assim, a amostragem do presente trabalho mostrou que apesar das coletas apresentarem predominantemente indivíduos juvenis, menores que 115 mm, a pesca com currais também captura indivíduos adultos.

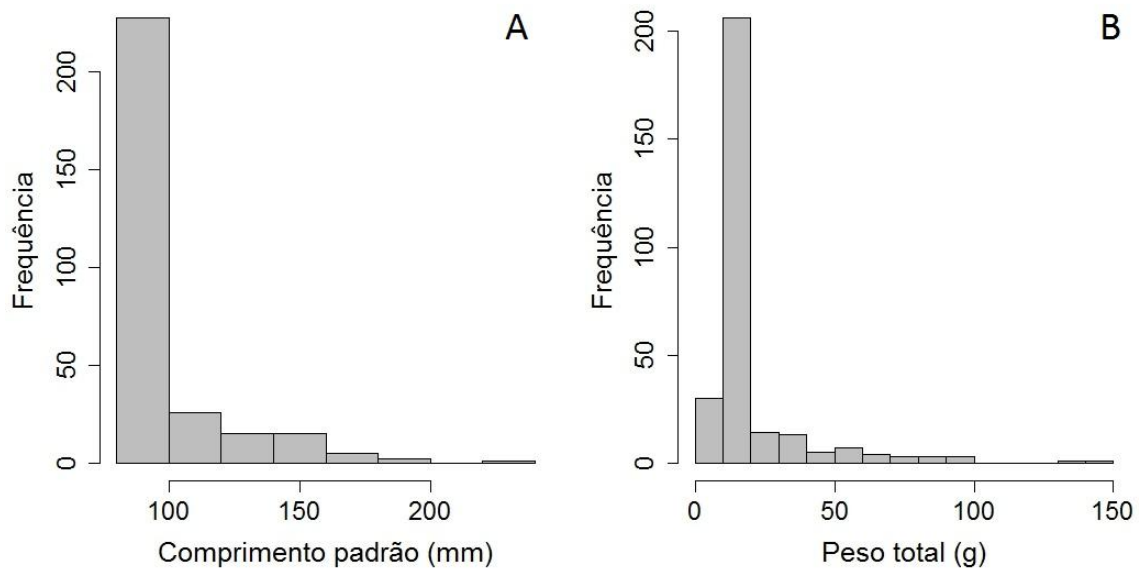


Figura 2: Distribuição de frequência do comprimento padrão (A) e peso total (B) dapalombeta (*Chloroscombrus chrysurus*) capturada por currais Pontas de Pedra, Goiana-PE.

Os parâmetros estimados pela relação comprimento-peso estão apresentados na Tabela 2. O coeficiente angular estimado foi de 2,977, a partir do teste t podemos afirmar que a *C. chrysurus* apresenta um crescimento do tipo isométrico ($b=3$), ou seja, o peso aumenta proporcionalmente ao crescimento. A curva apresenta ajuste relativamente bom com a existência de poucos exemplares com valores discrepantes (Figura 3). O valor da inclinação da RCP ocorreu dentro do intervalo esperado, entre 2,50 e 3,50, como demonstrado por Froese (2006). Porém, uma alometria negativa foi observada para a relação comprimento-peso para a espécie no sudeste do Brasil de $b= 2,71$ (VAZ-DOS-SANTOS; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, 2013). Essa diferença pode ser associada as diferenças da arte de pesca em diferentes momentos (VIANNA et al., 2004). A diferença do comportamento de crescimento encontrada no sudeste do Brasil para o do presente trabalho requer estudos futuros de alometria, para diagnosticar diferentes estratégias de crescimento na espécie e associá-las a fatores ecológicos, comportamentais e fisiológicos.

Parâmetros	
a	$1,902 \times 10^{-5}$
IC 95% a	$1,303 \times 10^{-5} - 2,774 \times 10^{-5}$
b	2,977
IC 95% b	2,895–3,059
t_b	-0,5447
P	0,3434

R^2

0,91

a= valor do intercepto; b = valor do coeficiente angular; IC 95% = intervalo de confiança; t_b = resultado do teste t para b; p= probabilidade do teste t; R^2 = coeficiente de Pearson

Tabela 2. Estimativas dos parâmetros da relação comprimento-peso (RCP) para palombeta (*Chloroscombruschrysurus*) capturada em Pontas de Pedra, Goiana-PE.

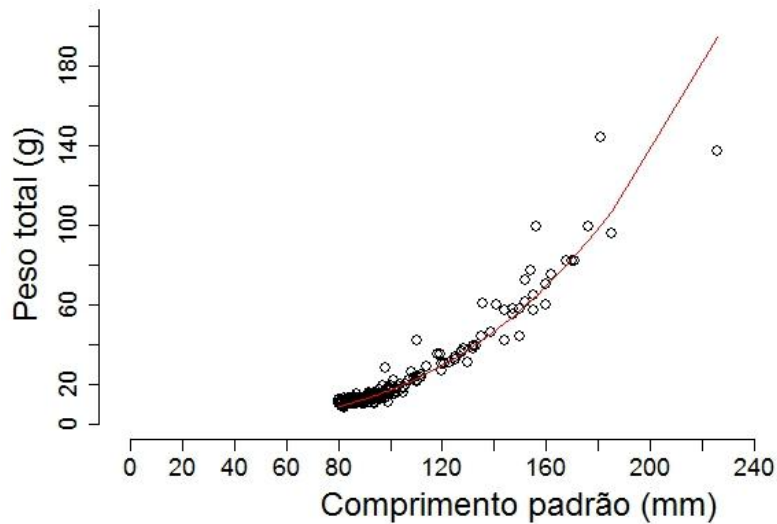


Figura 3: Relação comprimento padrão-peso total para palombeta (*Chloroscombruschrysurus*) sexos agrupados, capturada em Pontas de Pedra, Goiana-PE.

O estudo da relação comprimento-peso de *Chloroscombruschrysurus* foi importante para constatar o comportamento do crescimento desta espécie em Pontas de Pedra. Evidenciou-se uma possível seletividade da pesca com currais por predominância de indivíduos juvenis de acordo com a estrutura de comprimento observada, além disso vale ressaltar que para as análises não houve a separação por sexo. Assim, diferenças sobre o comportamento do crescimento por sexo e idade não são abordadas no presente estudo, por outro lado, as informações apresentadas servem como base para futuras comparações entre ambientes, assim como para estimar o fator de condição da Palombeta na região estudada.

4 Referências

BOLGER, T.; CONNOLLY, P.L. The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition. **Jour. Fish Biol.** 34: 171-182. 1989.

CERVIGÓN, F. Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América. 1992.

FROESE, Rainer. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. **Journal of applied ichthyology**, v. 22, n. 4, p. 241-253, 2006.

LE CREN, E.D. The length - weight relationship and seasonal cycle in

gonadweightandcondition in theperch (*Perca fluviatilis*). J. Anim. Ecol., Oxford, v. 20, p. 201-219, 1951.

MAGRO, M. et al. Síntese de conhecimento dos principaisrecursospesqueiroscosteiros potencialmente explotáveis na costa sudeste-sul do Brasil: peixes. Brasília, MMA- Ministério do MeioAmbiente, dos RecursosHídricos e da Amazônia Legal, CIRM-Comissão Interministerial para os Recursos do Mar: p.109. 2000.

MENEZES, N.A.; FIGUEIREDO J. L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. IV. Teleostei (3)**. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, Brasil. 96 p. 1980.

PIORSKI, N. M. et al. Análise comparativa da pesca de curral na Ilha de São Luis, Estado do Maranhão, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 42, n. 1, p. 65-71, 2009.

RICHTER, H. et al. An improved procedure to assess fish condition on the basis of length-weight relationships. **Archive of Fishery and Marine Research**, v. 48, n. 3, p. 255-264, 2000.

VAZ-DOS-SANTOS, A. M.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D.B.. Length-weight relationships of the ichthyofauna associated with the Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis*, on the Southeastern Brazilian Bight (22 S-29 S) between 2008 and 2010. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 2, p. 326-330, 2013.

VAZZOLER, A. E. A. M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. **Maringá: Eduem**, v. 169, 1996.

VIANNA, M., COSTA, F.E.S.; FERREIRA, C.N. Length-weight relationship of fish caught as by-catch by shrimp fishery in the southeastern coast of Brazil. *Bol. Inst. Pesca* 30(1):81-85. 2004.

DESCRIÇÃO DA VASCULARIZAÇÃO ARTERIAL DO MESENTÉRIO NA PREGUIÇA *BRADYPUS* *VARIEGATUS*

Silvia Fernanda de Alcântara, Maria Eduarda Luiz Coelho de Miranda,
Emanuela Polimeni de Mesquita, Richelle da Silva Braz, Priscilla Virgínio de
Albuquerque, Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Alcantarabio35@gmail.com

Resumo

Este trabalho teve por finalidade analisar os ramos aórticos que irrigam o mesentério do bicho-preguiça. Para isso foram utilizados oito animais pertencentes ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DMFA/UFRPE). Foram fixados com formaldeído a 10% e conservados em tanques de solução salina a 30%, e posteriormente dissecados, para análise da origem e características das artérias mesentéricas cranial (AMCr) e caudal (AMCa). Com base nos dados obtidos, observou-se que as artérias mesentéricas se comportam de maneira diferente nos espécimes estudados, uma vez que, pôde-se constatar a presença da AMCr e AMCa, e em alguns casos apenas a AMCr ou uma artéria mesentérica comum, que após a origem se bifurca em AMCr e AMCa. Na espécie *Bradypus variegatus* as mesentéricas se originaram ventralmente da aorta, e apresentaram uma morfologia arqueada ao longo de todo o mesentério. Na minoria analisada foi percebida uma bifurcação da AMCr, todavia os ramos gerados seguem a mesma característica daqueles de animais onde não houve bifurcação. O conhecimento dos aspectos do intestino dos animais silvestres favorece a clínica medicocirúrgica e uma melhor assistência para os mantidos em cativeiro.

Palavras chave: morfologia, Xenarthra, artéria, vascularização, intestino

1 Introdução

B. variegatus, conhecida como preguiça-comum, é uma espécie de mamífero placentário exclusiva da América do Sul e Central, pertencente à superordem Xenarthra, assim como os tamanduás e tatus (Gardner, 2005). O Brasil possui quase todos os representantes do gênero *Bradypus*, favorecendo assim o país no desenvolvimento de pesquisas em áreas multidisciplinares (Amorim, 2000). Espécies atuais do bicho-preguiça são conhecidas por aspectos fisiológicos e anatômicos relativamente antigos, que diferem em sua maioria dos padrões encontrados em outros mamíferos.

São animais muito sensíveis, que possuem peculiaridades e pouca descrição de sua morfologia e vascularização, dificultando a criação de uma condição apropriada para que suas necessidades básicas e de vida sejam supridas, bem como o atendimento

devido aos animais mantidos em cativeiros ou que precisem de tratamento de doenças (Peres, 2005). Tendo em vista que, já existem espécies de bicho-preguiça em vias de extinção, segundo a International Union for Conservation of Nature- IUCN para lista de animais ameaçados de 2017, onde *Bradypus torquatus* segue numa situação de vulnerabilidade e *Bradypus pygmaeus* está criticamente em risco.

O presente trabalho teve por finalidade estudar a vascularização mesentérica de *B. variegatus*, e assim compreender nesses vertebrados, aspectos do princípio de sua construção corporal. Cassano (2006) ressalta a importância de desenvolver tais pesquisas. O conhecimento da origem e distribuição de ramos das artérias mesentéricas AMCr e AMCa na preguiça-comum contribui para informações de cunho morfológico auxiliando em intervenções cirúrgicas, que tem um papel importante na manutenção da vida dos animais feridos e doentes.

2 Material e Métodos

Foram utilizadas oito preguiças, quatro fêmeas e quatro machos da espécie *B. variegatus*, pertencentes ao acervo da Área de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco DMFA/UFRPE. Os cadáveres foram fixados com fomaldeído a 10% e conservados em solução salina a 30% em tanques. A dissecação dos espécimes ocorreram a partir de uma incisão sagital mediana no abdome, seguida do rebatimento da pele, musculatura e dissecação dos principais ramos mesentéricos da aorta, com o objetivo de observar a origem e a distribuição da AMCr e AMCa. A análise dos dados considerou a origem, frequência e modelo de ramificações das artérias mesentéricas. O projeto foi aprovado sob a licença nº 034/2015 do Comitê de Ética de Uso Experimental Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco e SISBIO nº 46665-3.

3 Resultados e Discussão

A vascularização arterial dos intestinos de *B. variegatus* é realizada pelas artérias mesentéricas craniais e caudais, ou só pela cranial, ou ainda, por uma artéria mesentérica comum, que emergem da aorta abdominal ventralmente. Foi observado que, 37,5% das preguiças estudadas não apresentaram a AMCa, sendo os intestinos irrigados apenas pela AMCr. 62,5% dos espécimes tiveram a irrigação realizada tanto pela AMCr quanto pela AMCa e 25% por uma artéria mesentérica comum. Verificou-se também que, a morfologia das artérias mesentéricas que irrigam o tanto o intestino grosso quanto o intestino delgado é arqueada, e a hierarquia do calibre dessas artérias possui uma diminuição gradativa ao longo do intestino, onde os arcos do intestino grosso apresenta-se maiores em comparação aos arcos do intestino delgado.

Sabendo que a AMCr surge da artéria aorta abdominal e segue adentrando ao mesentério, existem exceções que são vistas em fetos de búfalos, onde o vaso se origina na artéria aorta torácica (Machado et al. 2000), e na tartaruga-de-ouvido-vermelho, em que apresenta uma anastomose com a AMCa (Rodrigues et al. 2003), a artéria emerge da face medial da artéria aorta o que também é visto numa variedade de aves como galo, flamingo, ema, galinha e avestruz (Gonçalves et al. 2000, Machado et al. 2000, Campos et al. 2006, Miranda et al. 2009, Neira et al. 2016). AMCa surge nas preguiças como um

ramo aórtico, esse sentido se repete para maioria dos mamíferos, no entanto, em quelônios, Faria e Marina (2001) encontraram esta artéria como um ramo que continua a artéria celíaca, enquanto que Santos et al. (2004) em seus trabalhos com a tartaruga-da-Amazônia, constata que AMCa surge da artéria aorta, assim como em *B. variegatus*. Gonçalves et al. (2000) e Machado et al. (2000), em seus estudos com emas e flamingos, respectivamente, perceberam que AMCa se origina da artéria sacral. Em preguiças *B. torquatus* foi descrita a existência de uma artéria mesentérica comum que emite ramos para todo mesentério, como foi visto na espécie utilizada nesta pesquisa (Ferreira et al. 2013).

4 Agradecimentos e apoios

Agradeço ao apoio do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. À Professora Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim. E a Técnica Priscilla Virgínio de Albuquerque.

5 Referências

- Amorim, M.J.A.A.L. **A placenta da preguiça, *Bradypus variegatus*-Schinz 1825.** 2000. 78f. Tese (Doutorado Anatomia dos Animais Domésticos)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2000.
- Cassano, C.R. **Ecologia e conservação da preguiça (*Bradypus torquatus* Illiger, 1811) no Sul da Bahia.** 2006. 127f. Dissertação (Mestrado Programa Pós-Graduação em Zoologia)-Universidade Estadual de Santa Cruz, Bahia, 2006.
- Faria T.N. **Descrição da origem, trajeto e número das principais artérias do jabuti (*Geochelone carbonária*, Spix, 1824).** 2000 42f. Dissertação (Mestrado Medicina Veterinária e Zootecnia)-Universidade de São Paulo, 2000.
- Faria T.N., Marina A.N.B. Origens e ramificações das artérias aortas esquerda e dorsal do jabuti (*Geochelone carbonária*, Spix, 1824). **Brasilian Journal of Veterinary Research and animal Scienc**, v.38, n.4, p.155-159, 2001.
- Ferreira J.R., Resende L.C, Carvalho P., et al. Modelo de suprimento sanguíneo do intestino delgado e grosso da preguiça-de-coleira (*Bradypus torquatus*). **Ciência Rural**, v.43, n.6, 2013.
- Gardner A. L. Wilson, D. E. & Reeder, D. M. In: **Mammals species of the world: A taxonomic and geographic reference** Baltimore: The John Hopkins University, 2005. V12.
- Gonçalves P.R. Parizzi A., Machado G.V., et al. Comportamento anatômico das artérias mesentéricas na Ema (*Rhea americana*). **Brasilian Journal os Morphology Science**, v.17, p.226-227, 2000.
- The IUCN Red List of Threatened Species. **Guiding Conservation for 50 Year.** Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em 05 de junho de 2017.
- Machado G.V. et al. Aspectos anatômicos das artérias mesentéricas em flamingos (*Phoenicopterus ruber chilensis*). **Brasilian Journal os Morphologyn Science**, v.17, p226, 2000.

Machado M.R.F., Miglino M.A., Cabrael V.P., et al. Origem das artérias celíacas e mesentérica cranial em bubalinos (*Bubalus bubalis*, L.1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.37, n.2, p.99-104, 2000.

Peres, M.A. **Colheita e avaliação do sêmen do bicho-preguiça (*Bradypus sp.*)**. 2005. Dissertação (Mestrado Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.

Rodrigues R.F., Miglino M.A., Melo A.P.F. Vascularização arterial do trato gastrointestinal da (*Trachemys scripta*, Wied, 1838). **Brazilian Journal of Veterinary Research And Animal Sciene**, v.40, n.1, p.63-68, 2003.

Santos A.L.Q., Mundim A.V., Morais F.M., et al. Origem e ramificações das artérias Mesentéricas cranial e caudal em tartaruga da Amazônia (*Podocnemis expansa*-Schweigger,1812). **Archives of Veterinary Science**, v.9, n.2, p.49-53. 2004.

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DE AMELOBLASTOMA ACANTOMATOSO EM CANINO

Lourival Barros de Sousa Brito Pereira¹, Homero Firmo Pessoa², Bruno Henrique de Albuquerque Paiva³, Lucilo Bioni da Fonsêca Filho⁴, Ana Cristina Costa de Sousa⁵, Júlio César dos Santos Nascimento⁶

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

2 Médico Veterinário especializado em oncologia

3 Médico Veterinário, residente em Patologia Animal em Universidade Federal de Minas Gerais

4 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

5 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

6 Professor em Centro Universitário Maurício de Nassau

Email: lorinho2013.1@hotmail.com

Resumo

O ameloblastoma acantomatoso, antes chamado de épulis acantomatoso, é um tumor epitelial oral infiltrativo com baixa frequência variando de 1% a 5%. É considerado um tumor benigno, porém localmente agressivo, podendo invadir o osso da mandíbula ou da maxila e não metastatiza. O diagnóstico definitivo é baseado no resultado histopatológico. O objetivo do trabalho é analisar as características clínico-histopatológico de um animal diagnosticado com ameloblastoma acantomatoso cujo laudo histopatológico mostra ser uma neoplasia de célula epitelial, não encapsulada, mal delimitada, formando trabéculas e ilhas sustentadas por estroma fibrovascular delgado e que devido sua rápida progressão na região caudal da maxila infiltrando palato duro, optou-se pela eutanásia do animal. Dessa forma, o diagnóstico precoce dessa neoplasia, principalmente em região maxilar, aumenta a sobrevida do animal.

Palavras chave: histopatologia, neoplasia, oncologia, tumor benigno

1 Introdução

Os tumores orais apresentam diferentes tipos histológicos oriundos de estruturas não odontogênicas ou odontogênicas (FILGUEIRA et al, 2016). Possui baixa frequência, variando de 1% a 5% das neoplasias orais caninas e caracteriza-se por ser expansível e de progressão lenta, porém há risco de invasão e lise óssea, sem ocorrência de metástase à distância (FILGUEIRA et al, 2016).

Os ameloblastomas normalmente não apresentam sinais clínicos e na maioria das vezes são descobertos durante exames radiográficos de rotina (MARTINEZ et al, 2008), porém quando demonstram sinais clínicos os mais comumente observados são, aumento de volume local, contorno facial alterado, hemorragia, dor ao abrir a boca, passagem das patas na cavidade oral, halitose, sialorreia, dificuldade de mastigação, mobilidade, deslocamento, apinhamento e perdas dentárias, anorexia, perda de peso e fratura patológica por comprometimento ósseo grave. Nem sempre há alteração nos linfonodos regionais (DIAS et al, 2013).

Para o diagnóstico definitivo a citológica do tecido e/ou biópsia incisional ou excisional são recomendadas, pois os ameloblastomas se assemelham ao carcinoma epidermoide e ao fibrossarcoma. No ameloblastoma sólido ou multicístico, o aspecto radiográfico mais característico é uma lesão radiotransparente multilobular (MARTINEZ et al, 2008). A tomografia computadorizada e ressonância magnética, oferecem dados mais precisos e auxiliam na escolha do tratamento (DIAS et al, 2013).

A cirurgia com uma ampla margem de segurança é a principal modalidade terapêutica que pode ser associada ou não à radioterapia para evitar recidiva. A quimioterapia é ineficaz no tratamento desse tipo neoplásico (DIAS et al, 2013).

Há poucos registros publicados a respeito da abordagem clínica, diagnóstico e procedimento realizado em animais com ameloblastoma acantomatoso, que possa ajudar na conduta clínica para dar ao paciente uma qualidade de vida (FILGUEIRA et al, 2016).

2 Relato de caso

Foi atendido em uma clínica veterinária um canino, rottweiler, 9 anos, com queixa de secreção nasal unilateral há 2 meses, tratado com antibiótico posteriormente, tendo melhora clínica, porém com reincidivas. No exame físico notou-se secreção nasal unilateral esquerda, uma leve assimetria de face e na inspeção da cavidade oral observou três nódulos em palato próximo ao quarto pré-molar esquerdo, de cor rosea com regiões avermelhadas. O médico veterinário solicitou um raio-x da face, porém não foi autorizado pelo proprietário. O hemograma feito antes da intervenção cirúrgica estava dentro dos parâmetros normais. Vinte dias após diagnóstico, o animal retornou à clínica com dificuldade de mastigar, uma maior assimetria da face lado esquerdo e elevação do globo ocular. Optou-se em realizar a eutanásia vista a grande infiltração óssea local compatível com a literatura.

3 Achados histopatológicos

O exame histopatológico relatou ser neoplasia de célula epitelial, densamente celular, não encapsulada, mal delimitada, formando trabéculas e ilhas sustentadas por estroma fibrovascular delgado. Visto na porção basal do epitélio de revestimento invaginações trabeculares anastomosantes, que infiltram na porção superficial da lâmina própria, a qual apresenta infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e neutrofílico intersticial, associado à discreta proliferação de fibroblastos bem diferenciados. As células variam

de cuboide a colunar com citoplasma basofílico com várias células poligonais de citoplasma amplo eosinofílico que exibem diferenciação escamosa, de limites distintos. Os núcleos são redondos de cromatina frouxa e uma a dois núcleos evidentes. Foi visto raras figuras de mitoses com anisocitose e anisocariose moderadas. Tendo como conclusão o diagnóstico definitivo de ameloblastoma acantomatoso.

4 Resultados e Discussão

O ameloblastoma acantomatoso é um tumor odontogênico, originário de elementos epiteliais e pode surgir dentro do osso ou no epitélio gengival (Filgueira et al, 2016). Os achados clínico-histopatológico corroboram os relatos característicos apresentados na literatura, diversos autores concordam que é um tumor benigno que não expressa sinal clínico inicialmente e quando tem geralmente há aumento de volume local. O diagnóstico precoce dessa neoplasia tanto por exames de imagem quanto citológico e histopatológico são necessários, tendo em vista o comportamento biológico de cada tipo de ameloblastoma, resultando em uma sobrevida maior ao paciente, ainda mais com uma localização desfavorável à intervenção cirúrgica com ampla margem que é o tratamento de eleição.

FIGURA



ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS

Mucosa oral (por informação): com neoplásica de células epiteliais, densamente celular, não encapsulada, mal delimitada, formando de trabéculas e ilhas sustentadas por estroma fibrovascular delgado. A porção basal do epitélio de revestimento apresenta invaginações trabeculares anastomosantes, que infiltram na porção superficial da lâmina própria, a qual apresenta infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e neutrofílico intersticial, associado à discreta proliferação de fibroblastos bem diferenciados. As células variam de cuboide a colunar com citoplasma basofílico (células basaloide) com várias células poligonais de citoplasma amplo eosinofílico que exibem diferenciação escamosa, de limites distintos. Os núcleos são redondos de cromatina frouxa e uma a dois núcleos evidentes. Raras figuras de mitoses são observadas. Anisocitose e anisocariose moderadas. A neoplasia ultrapassa os limites do fragmento analisado.

CONCLUSÃO

MUCOSA ORAL (POR INFORMAÇÃO): AMELOBLASTOMA ACANTOMATOSO.

3

Figura 1: Nódulo no palato duro a nível do quarto pré-molar. Arquivo pessoal

Figura 2: Assimetria na face lateral esquerda. Arquivo pessoal

Figura 3: Achados do exame histopatológico. Arquivo pessoal

5 Conclusão

Apesar do ameloblastoma ser considerado um tumor benigno, uma de suas características principais é de ser um tumor também invasivo que pode invadir inclusive o tecido ósseo, levando a consequências que podem ser irreversíveis ao animal. O proprietário quando constatar qualquer anormalidade no animal como o surgimento de massa ou volume que antes não havia no animal deve prontamente buscar a ajuda de um médico veterinário especializado em oncologia para se fazer os exames e se ter um diagnóstico preciso sobre o tumor, podendo tratar o animal da maneira certa.

6 Agradecimentos:

Ao meu orientador Prof. Dr. Júlio César do Nascimento, pelas suas correções e incentivos

Ao médico veterinário Homero Firmo Pessoa, pela orientação, apoio e confiança

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

E a todos que direta ou indiretamente ajudaram na elaboração deste trabalho, o meu obrigado.

7 Referências

DIAS, F.G. G.; et al. EPÚLIDE ACANTOMATOSO EM CÃO – **Revisão de literatura. revista científica eletrônica de medicina veterinária** – ISSN: 1679-7353. Ano XI – Número 20 – 2013

FILGUEIRA, K. D.; et al. Ameloblastoma acantomatoso canino: aspecto clínico-diagnóstico e manejo terapêutico. **XIV Congresso Paulista de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais - CONPAVEPA** - 2016.

MARTINEZ, C. R. Et al. Ameloblastoma: Estudo Clínico-Histopatológico. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac.** Camaragibe v.8, n.2, p. 55 – 60. 2008.

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLOGICO E IMUNOHISTOQUÍMICO DO CARCINOMA TRANSICIONAL

**Lourival Barros de Sousa Brito Pereira¹, Lucilo Bioni da Fonsêca Filho²,
Homero Firmo Pessoa³, Tamiris Maria da Silva⁴, Gabriela de Paiva
Sousa⁵, Júlio César dos Santos Nascimento⁶**

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

2 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

3 Médico Veterinário especializado em oncologia

4 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

5 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

6 Professor em Centro Universitário Mauricio de Nassau

Email: lorinho2013.1@hotmail.com

Resumo

O carcinoma de células de transição (CCT) é o tumor que mais acomete a vesicular urinária de cães. Apresenta uma etiologia multifatorial e com sinais clínicos semelhantes a uma cistite. É um tumor de comportamento maligno e tem como localização mais comum a região do trígono vesical. O uso de inibidores de COX-2 tem sido incluído no tratamento do CCT pelo fato de que a superexpressão de COX-2 está relacionada com o processo de angiogênese. Este resumo tem como objetivo relatar achados clínico-histopatológicos de um canino diagnosticado com carcinoma transicional após ter realizado exame histológico e de imunohistoquímica do nódulo presente na vesícula urinária. Observou-se no exame ser uma neoplasia de célula epitelial, com intensa anisocitose, anisocariose, pleomorfismo e uma considerável imunomarcagem para COX-2 e E-Caderina. Desta forma, com um diagnóstico tardio, os tratamentos disponíveis ficaram limitados. O animal ficou sem sintoma clínico após ser prescrito anti-inflamatório não esteroide.

Palavras chave: bexiga urinária, neoplasia, oncologia, tumor maligno

1 Introdução

O carcinoma de células de transição é um tumor de que se desenvolve a partir das células do epitélio de transição, tem um comportamento maligno e pode invadir as camadas da parede da bexiga incluindo a muscular. A localização mais comum do CCT na bexiga é a região do trígono. O seu crescimento provoca espessamento da parede,

pode causar grave obstrução do fluxo urinário, pode metastizar não só para os gânglios linfáticos regionais, como também para outros órgãos, tais como pulmões e fígado, entre outros (MARTINS, 2014).

A etiologia é considerada multifatorial, dentre elas estão obesidade e exposição à produtos tóxicos (como o tripotofano), pulcidas e carrapaticidas. Valandro et al (2017) descreveu que Sheepdogs, Beagles, Collies e Scottish Terrier apresentam maior prevalência e fêmeas entre 9 e 11 anos são mais acometidas (VALANDRO et al, 2017).

Os sinais clínicos mais observados em cães com carcinoma transicional é a hematúria, estrangúria, polaquiúria, tenesmos, dor abdominal e incontinência (VALANDRO et al, 2017).

A cistografia de contraste e a ultrassonografia são exames indispensáveis para o diagnóstico, porém a confirmação diagnóstica é realizada pelo exame histopatológico (TELLES et al, 2017).

Na maioria dos casos, o carcinoma transicional só é diagnosticado quando já atingiu a parede da bexiga, limitando assim a eficácia dos tratamentos disponíveis tornando o prognóstico ruim (MARTINS, 2014).

Os carcinomas das células transicionais são compostos de epitélio transicional anaplásico a pleomórfico e matastiza geralmente nos linfonodos regionais adjacentes à bifurcação da aorta, incluindo os linfonodos inguinal profundo, ilíaco medial e sacral (TELLES, 2017).

A superexpressão de COX-2 está relacionado com o aumento dos fatores de crescimento vascular, e conseqüentemente com o processo de angiogênese, que é fundamental para o desenvolvimento tumoral, contribuindo para a nutrição das células neoplásicas e é uma importante via para disseminação destas células durante o processo de metástase (JARK et al, 2011).

2 Relato de caso

Foi encaminhado à clínica, um canino, poodle, 11 anos diagnosticado com carcinoma transicional na bexiga após exame histopatológico do fragmento retirado por biopsia incisional. O médico veterinário solicitou exame de imunohistoquímica para melhor conduzir a terapia. No exame de imagem a ultrassom detecta uma hidronefrose do rim esquerdo devido a uma provável obstrução do ureter pelo tumor condizente com o que a literatura preconiza a respeito do triângulo sem a região mais acometida.

3 Achados histopatológico e imunohistoquímico

O exame histopatológico confirma ser uma neoplasia de célula epitelial disposta em múltiplos agregados densos, demarcado por denso e abundante estroma fibroso, muito infiltrativo, dispostas em padrão sólido formando numerosas estruturas tubulares com desprendimento das células neoplásicas para o lúmen, associadas a fendas de colesterol. As células apresentaram citoplasma amplo e eosinofílico, finamente vacuolizado e núcleos redondos a ovais com a cromatina frouxa e 1-2 nucléolos evidentes com intensa anisocitose, anisocariose, pleomorfismo celular e anisonucleólise, com macronúcleos e

macronúcleolos. Foram observadas 3 mitoses típicas e 2 atípicas por campo na objetiva de 40x e foram observados alguns focos de infiltração linfática.

No laudo de imunohistoquímica pode-se constatar um percentual alto de COX-2 e de E-Caderina e positivo em aproximadamente 24% das células neoplásicas para marcador de proliferação Ki-67.

FIGURA

ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS

Bexiga: neoplasia de células epiteliais disposta em múltiplos agregados densos, delimitado e entremeado por denso e abundante estroma fibroso e muito infiltrativo. As células estão dispostas em padrão sólido, com numerosas células dispostas individualmente, ou formando numerosas estruturas tubulares com desprendimento das células neoplásicas para o lúmen, associadas a fendas de colesterol. Essas células apresentam citoplasma amplo e eosinofílico, finamente vacuolizado e núcleos redondos a ovais, amplos, com a cromatina frouxa e 1-2 nucléolos evidentes. Há intensa anisocitose, anisocariose, pleomorfismo celular e anisonucleólise, com macronúcleos e macronúcleolos. São observadas 3 mitoses típicas e 2 atípicas por campo na objetiva de 40x. São observados alguns focos de infiltração linfática.

EXAMES COMPLEMENTARES

Coloração imuno-histoquímica para:

*COX-2: ++++;

*E-Caderina: +++++;

Marcador de proliferação Ki-67 positivo em aproximadamente 24% das células neoplásicas.

** E-Caderina e COX2 avaliadas em escala de + até +++++ referentes ao percentual de células marcadas.*

CONCLUSÃO

BEXIGA: **CARCINOMA TRANSICIONAL.**

1

Figura 1: Achados do exame histopatológico e de imunohistoquímica. Arquivo pessoal.

4 Conclusão

Por se tratar de um tumor que apresenta comportamento maligno, o carcinoma de células de transição precisa ser diagnosticado o mais rápido possível, facilitando assim o sucesso no tratamento. É preciso solicitar exames complementares como bioquímica, urinalise e citológico para evitar confundir o diagnóstico com uma possível cistite. O tratamento cirúrgico nem sempre surte o efeito tendo em vista que o CCT é muito invasivo e pode ter recidiva com frequência.

5 Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Júlio César do Nascimento, pelas suas correções e incentivos

Ao médico veterinário Homero Firmo Pessoa, pela orientação, apoio e confiança

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

E a todos que direta ou indiretamente ajudaram na elaboração deste trabalho, o meu obrigado.

6 Referências

A. VALANDRO, M. et al. CARCINOMA DE CÉLULAS TRANSICIONAIS EM UMA CADELA: RELATO DE CASO. **XVII Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, S.I., p.1-4. 2014.

JARK, P. C. et al. 1USO DE INIBIDORES DE COX-2 NO TRATAMENTO DO CARCINOMA DE CÉLULAS DE TRANSIÇÃO DE BEXIGA EM CÃES – REVISÃO. **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, n. 4, p.523-520. 2011.

MARTINS, A.R.C. Carcinoma de células de transição de bexiga em cães. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. **Tese mestrado**, 2014.

TELLES, S. A. et al. Carcinoma de células de transição de bexiga em cão: Relato de caso. **Pubvet**. v. 10, n. 1, p.1-5, jan. 2017.

ESPOROTRICOSE FELINA: RELATO DE CASO

**Keylla Raíssa Soares Pereira de Melo¹, Joselma da Silva Cavalcanti Bertoldo¹,
Mirelly Santos de Lima¹, Wanessa Izabel Monteiro Guerra¹, Paola Teles Soares²
Luciana Cavalcanti de Arruda Coutinho³**

¹ Discentes do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Maurício de Nassau, Recife – PE.

² Médica Veterinária autônoma, Recife – PE.

³ Docente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Maurício de Nassau, Recife –PE.

Email: Keylla.rayssa@hotmail.com

Resumo

A esporotricose é uma infecção micótica, subcutânea e piogranulomatosa, causada pelo complexo *Sporothrix schenckii*, fungo geofílico, dimórfico, que se apresenta na forma micelial, entre 25° e 30°C, e na forma parasitária, como levedura, a 37°C. O presente trabalho teve como objetivo relatar um caso de esporotricose felina, na cidade de Recife, Pernambuco. Um felino, SRD, Macho inteiro, 3 kg, apresentando histórico de múltiplas lesões cutâneas, atendido no departamento de Medicina Veterinária do Centro Universitário Maurício de Nassau, Recife – PE, onde realizou-se coleta do exsudato das lesões, por meio de suabes, para exame citopatológico e microbiológico. No exame de triagem observou-se estruturas leveduriformes compatíveis com *S. schenckii*, e ao exame microbiológico, observou-se presença de colônias miceliais no cultivo em temperatura ambiente e crescimento na forma de leveduras quando incubadas a temperatura de 35°C. O tratamento farmacológico de escolha foi o itraconazol na dose de 100 mg/animal a cada 24 horas durante 30 dias.

Palavras chave: felinos, *Sporothrix schenckii*, zoonose.

1 Introdução:

Dentre os agentes fúngicos responsáveis pelos quadros de dermatopatias, pode-se destacar o agente etiológico do complexo *Sporothrix schenckii* (ARAÚJO et al., 2016). Apesar de sua distribuição mundial, desenvolve-se melhor em climas tropicais, sendo considerada a micose subcutânea de maior ocorrência no Brasil (TEIXEIRA, M. K & SILVA, C. R. 2016).

Nas duas últimas décadas, tem sido notório o aumento da incidência dos casos de esporotricose felina e esporotricose zoonótica, tornando-a de caráter emergente (GREMIÃO et al. 2017).

Por possuir um caráter geofílico, o *S. schenckii* sempre esteve associado a uma ergodermatose, no qual floricultores, trabalhadores rurais e jardineiros, assim como, os profissionais que atuam no trato dos animais acometidos, eram considerados os mais susceptíveis. (PIMENTEL et al., 2011).

Atualmente, é o contato mais íntimo dos seres humanos com os felinos no ambiente doméstico, que mais está associado à esporotricose zoonótica. Gatos não castrados, em disputa por territórios, entram em confronto, provocando lesões por arranhaduras ou mordeduras, transmitindo a doença aos susceptíveis (LARSSON, C. E. 2011). A contaminação dos felinos está relacionada aos hábitos de afiar as unhas em tronco de árvores, cavar e interagir com elementos de origem vegetal, o que facilita a entrada do microrganismo na base das unhas, local que constitui ambiente ideal para iniciar uma relação de parasitismo (LARSSON, C. E. 2011).

Após a inoculação traumática, ocorre infecção cutânea e posterior comprometimento linfático regional produzindo linfangite e linfadenite, onde as lesões que caracterizam o quadro inicial podem evoluir para lesões ulceradas, crostosas associada à exsudado purulento (PIMENTEL et al., 2011)

Devido à importância epidemiológica, ao potencial zoonótico e ao conhecimento limitado da sociedade sobre a doença, objetiva-se contribuir com a maior divulgação e caracterização da enfermidade por meio da descrição de um caso de esporotricose felina, na cidade de Recife, Pernambuco, Brasil.

2 Material e Métodos:

No dia 8 de fevereiro de 2017, foi encaminhado ao CVA (Centro de Vigilância Ambiental) no município de Olinda, Pernambuco, um felino resgatado das ruas. Trata-se de um macho não castrado, SRD, que recebeu diagnóstico clínico para esporotricose.

O tratamento preconizado durante o atendimento foi amoxicilina e Clavulanato de Potássio 250 mg/5ml na dose de 1,2 ml à cada 12 horas durante 10 dias, antibiótico para uso tópico à base de neomicina e bacitracina para aplicação a cada 12 horas durante 15 dias, Itraconazol à 35 mg, uma capsula à cada 24 horas durante 30 dias, Hepvet® suspensão à 0,7 ml à cada 24 horas durante 30 dias e nutrifull cat na dose de 2 ml à cada 24 horas durante 20 dias. No dia 15 de fevereiro, foi encaminhado ao Departamento de Medicina Veterinária, Centro Universitário Maurício de Nassau, Campus Graças, Recife – PE, com peso aproximado de 3kg, com a mesma suspeita clínica de esporotricose. Seu estado clínico geral era moderado à ruim, apresentando acentuada desidratação, porém apresentava normofagia e normodipsia.

Na avaliação dermatológica, observou-se múltiplas lesões ulceradas e recobertas por crostas, algumas lesões inflamatórias demonstravam-se exsudativas de bordas elevadas, principalmente na região externa do pavilhão auricular.

Coletou-se uma amostra de sangue pelo acesso jugular direito para avaliação bioquímica e hematológica. Em seguida, foi recomendado a administração do Itraconazol na dosagem

de 100 mg e o Cetaconazol para uso tópico. Os resultados do hemograma revelaram alterações no hematócrito, CHCM e plaquetas abaixo dos valores de referência e proteínas totais acima do valor padrão. No exame bioquímico, apenas a transaminase pirúvica (ALT) demonstrou diminuição significativa frente ao valor de referência padrão (Tabela A). Pesquisa para hematozoários e agregados de plaquetas demonstrou resultado negativo.

Realizou-se diagnóstico citopatológico (triagem), obtido mediante coleta de amostras de infiltrado inflamatório com auxílio de suabes nas lesões cutâneas (pavilhão auricular direito e esquerdo, unha, nariz e olho esquerdo). Para tanto, foi utilizada o kit de corante rápido hematológico NewProv. Em seguida, no diagnóstico microbiológico (confirmatório) as amostras foram cultivadas em duplicatas nas placas de Petri contendo meio ágar Sabouraud® e da mesma forma em placas contendo meios ágar sangue ovino a 5%, incubados em temperatura ambiente e em estufa a 35° C, respectivamente.

Para o tratamento do animal foi prescrito o itraconazol na dose de 100mg/dia, em uso contínuo até 30 dias após cura clínica, associado ao uso de creme dermatológico à base de cetoconazol, de uso tópico e a permanência na administração do hepatoprotetor. Uma semana após a nova prescrição terapêutica, o animal demonstrou melhora clínica. Para melhor acompanhamento da condição clínica do animal, foi recomendado um novo hemograma e bioquímico.

3 Resultados e Discussão:

Infecções esporotricóticas podem ser confundidas com outras infecções fúngicas, alguns tipos de neoplasia ou mesmo com o sarcóide felino (MUNDAY et al. 2015). Faz-se necessário, portanto, utilizar diferentes técnicas no diagnóstico, que minimizem a chance de gerar falso positivos ou negativos. Entretanto, as lesões apresentadas por animais em estágios clínicos mais avançados possuem muitas características peculiares a infecção, como pode ser demonstrado pela Figura A, corroborando com os achados clínicos encontrados por Araujo & Leal (2016), Chaves (2011) e Meinerz et al. (2007).

O citopatológico evidenciou positividade devido aos infiltrados inflamatórios juntamente à presença de leveduras pleomórficas, arredondas, ovaladas, envoltas por halo claro, a grande maioria livres (Figura B: a), algumas fagocitadas (Figura B: b), em acordo com as descrições de Farias & Giuffrida (2016).

Quanto à avaliação macromorfológica dos meios ágar sangue, com 24 horas, para o cultivo das lesões da unha e orelha esquerda houve crescimento de colônias bacterianas, enquanto, para o cultivo das lesões do nariz e orelha direita houve crescimento de pequenas colônias fúngicas acizentadas, com aderência ao meio (Figura C: b).

Em seguida, após a coloração de gram desse cultivo, a microscopia evidenciou aglomerados de conídeos ovoides (Figura C: c).

Nas placas de Agar saboraud® houve crescimento fúngico, com 72 horas, onde foi constatada a presença de pequenas colônias fúngicas de cor branca que posteriormente no decorrer do intenso crescimento adotou coloração escurecida, mostrando-se aderidas ao meio (Figura D: a). A conclusão diagnóstica quanto ao cultivo micológico encontra-se de acordo com Farias & Giuffrida (2016), pois afirmam que, com o envelhecimento do cultivo, as colônias assumem coloração marrom-chocolate a quase negro no agar saboraud®.

O escurecimento observado nos meios de cultura ocorre devido à síntese de melanina pelos conídios, característica comumente observada na fase micelial do gênero *Sporothrix*, sendo essa produção um fator de patogenicidade necessária à sobrevivência do fungo em situações adversas (SILVA, N. F. 2014).

A adesão observada nos meios agar sangue e agar saboraud®, é considerada um outro fator de virulência, assim como na fase leveduriforme, na fase micelial de *Sporothrix spp.*, estão presentes nos conídios as moléculas de adesão à fibronectina (FARIAS, M. R. & GIUFFRIDA, A. V. 2016), conferindo micelios aderidos ao meio de cultura.

A micromorfologia exibida na Figura D: b, corresponde aos achados de Silva, 2014, revelando hifas septadas, ramificadas e conídios nas extremidades, que por vezes assemelham-se às rosetas (WATANABE et al., 2016; MEINERZ et al., 2007).

As alterações hematológicas e bioquímicas são inespecífica e consistente à condição inflamatória crônica. As anomalias encontradas, geralmente são anemia, leucocitose neutrofílica hiperglobulinemia e hipoalbumina (LIORET et al., 2013), aumento dos níveis séricos de creatinina, ureia, alanino-aminotransferase e aspartato-transaminase (CHAVES, A. R. 2011).

Para o tratamento do felino em questão, foi utilizado, inicialmente itraconazol na dose de 35 mg uma vez ao dia, mas atualmente, a dose mais preconizada é a de 100mg diariamente para gatos acima de 3kg e de 10-20 mg/kg para animais abaixo de 3 kg, devendo ser mantida a dose prescrita por 30 dias após a cura clínica (FARIAS, M. R. & GIUFFRIDA, A. V. 2016).

Faz-se necessário, entretanto, acompanhar a função hepática, monitorando enzimas como ALT que é um indicativo de lesão de hepatócitos, onde seus níveis poderão estar acima dos valores de referência devido aos efeitos hepatotóxicos do Itraconazol, apesar de outros efeitos colaterais como anorexia, vômito e diarreia estarem envolvidos (FARIAS, M. R. & GIUFFRIDA, A. V. 2016).

Neste relato, o animal avaliado enquadra-se no perfil dos animais mais susceptíveis, onde os machos são os mais afetados (TEIXEIRA, M. K & SILVA, C. R. 2016)

Considerando a situação epidemiológica, observa-se um crescente número de casos no decorrer dos anos, no entanto, temos alguns fatores predisponentes que estão relacionados com o aumento da enfermidade no Brasil, tais como: atividades ocupacionais em áreas urbanas e especialmente em áreas rurais, a vulnerabilidade dos grupos populacionais, ausência de medidas adequadas de controle e principalmente a negligência pelas autoridades (SILVA et al. 2012).

As regiões metropolitanas possuem

características bioclimáticas determinantes para o aumento significativo do número de casos. Nas últimas décadas, observa-se a esporotricose como uma doença urbana nas quais, condições precárias de infraestrutura e saneamento contribuem para o aparecimento dos surtos. Além disso, descreve-se que condições ambientais como casa com jardim, solo exposto e presença de felino no ambiente doméstico também são determinantes para a manutenção do ciclo (SILVA et al. 2012).

Deve-se ressaltar que, a esporotricose é influenciada pelos hábitos e estilos de vida. A relação mais próxima dos indivíduos com os gatos no ambiente domiciliar, é sem dúvida, um fator que facilita a transmissão zoonótica. Portanto, ressalta-se a importância de estudos interdisciplinares, comportamentais e socioambientais que buscam respostas e para melhor elucidar esse novo perfil epidemiológico da doença (SILVA et al. 2012).

Conclui-se que, é necessário diagnósticos conclusivos para notificação aos órgãos de seus municípios, de modo que contribua à detecção oportuna de casos em animais, como o apresentado neste relato, sendo um caso já notificado.

Tabela A: Resultados hematológicos e bioquímicos.

EXAME BIOQUÍMICO	RESULTADO	VALORES DE
REFERÊNCIAS		
Alanina aminotransferase – TGP (UI/L)	33.7	10 – 88
Transaminase Pirúvica – ALT (UI/L)	1.2	6 – 83
Creatinina (mg dL ⁻¹)	0.7	0.8 – 1.8
Fosfatase alcalina (UI/L)	34.3	25 – 93
Uréia (mg dL ⁻¹)	60.6	42.8 – 64.2
EXAME HEMATOLÓGICO	RESULTADO	VALORES DE
REFERÊNCIAS		
Hemáceas (milhões/mm ³)	5.45	5 – 10
Hemoglobina (g%)	7.4	8 – 15
Hematócrito (%)	27.7	38 – 47
VCM (u ³)	51	39 – 55
CHCM (%)	26.8	30 – 36
Leucócitos (mil/mm ³)	18.7	5.5 – 19.5
Segmentados (%)	11.781	2.500 – 12.500
Eosinófilos (%)	561	0 – 1.500
Monócitos (%)	187	0 – 850
Linfócitos (%)	6.171	1.500 – 7.000
Plaquetas (mil/mm ³)	258.000	300.000 – 800.000
Proteínas Totais (g%)		6 – 8



Figura A: Lesões inflamatórias em pavilhão auricular, cabeça, região dorsal e distais.

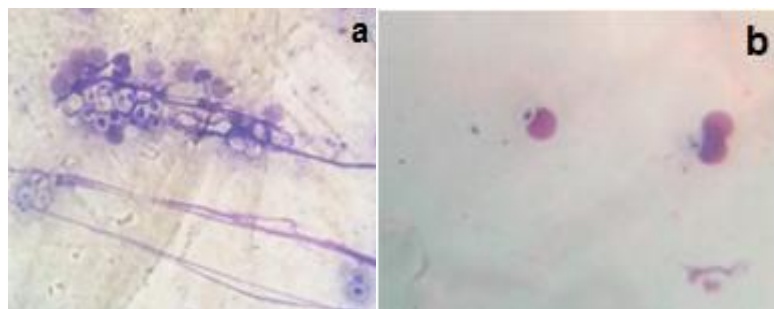


Figura B: a: Células levedureiformes similares aos agentes do complexo *S. Schenkii*, arredondadas, ovaladas e envoltas por halo claro, obj. 100x. Figura B: b: Levedura fagocitada, obj. 100x.



Figura C: a: Crescimento de colônias bacterianas do cultivo das lesões da unha e orelha esquerda. b: crescimento de pequenas colônias fúngicas acinzentadas com aderência ao meio. c: Coloração de gram do cultivo evidenciando aglomerados de conídeos ovóides, obj. 100x.



Figura D: a: Intenso crescimento fúngico apresentando superfície enrugada, com aspecto micelial e de cor- marron-escuro. b: Citológico do cultivo evidenciando aglomerados de conídeos ovóides proximo às hifas finas e ramificadas, obj. 100x.

4 Agradecimentos e apoios

Ao coordenador Artur Cezar de Carvalho Fernandes do Departamento do curso de Medicina Veterinária da Uninassau – Recife pela recepção do animal, às orientações e auxílios prestados pela Profa. Dra. Luciana Cavalcanti de Arruda Coutinho ao realizar o diagnóstico laboratorial do caso considerado de extrema importância à saúde pública e aos técnicos de laboratório da Uninassau (Bloco D), Recife - PE, pelo serviço do material utilizado para diagnóstico.

5 Referências

- ARAÚJO, A. K.; LEAL, C. A. Esporotricose felina no município de Bezerros, Agreste Pernambuco: Relato de caso. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, v.10, n.11, p.816-820. 2016.
- BAZZI, et al. Características clínico-epidemiológicas, histomorfológicas e histoquímicas da esporotricose felina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, v.36, n.4, p. 303-311, 2016.
- CHAVES, A. R. Evolução clínica dos casos de esporotricose felina diagnosticados no instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (iPEC)/Fiocruz no período de 1998 a 2005. **Pesquisa em base de dados – biblioteca virtual em saúde**, rio de Janeiro, 2011.
- FARIAS, M. R.; GIUFFRIDA, A. V. Esporotricose. In: MEGID, J.; Ribeiro, M.G.; Paes, A. C. Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia. **Roca**: São Paulo, 2016. 1296p.
- GREMIÃO, et al. Zoonotic epidemic of Sporotrichosis: Cat to human transmission. **PLoS Pathog**, Canadá, v. 13, 2017.
- LARSSON, C. E. Esporotricose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Scienc**, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 250-259, 2011.
- LLORET, et al. Sporotrichosis in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.15, p. 619-623, 2013.
- MEINERZ, et al. Esporotricose felina - relato de casos. **Ciência rural brasileira**, v.8, n.3, p. 575-577, 2007.
- MUNDAY, et al. Genomic characterisation of the feline sarcoid-associated papillomavirus and proposed classification as bos taurus papillomavirus type 14. **Veterinary Microbiology**, Nova York, p. 289-295, 2015.
- PIMENTEL, et al. Esporotricose felina – Relato de Caso. XVI **Seminário Interinstitucional de ensino, pesquisa e Extensão**. Cruz Alta, p. 5, 2011.
- TEIXEIRA, M. K; SILVA, C. R. ESPOROTRICOSE FELINA. **Revista VeZ em Minas**. n. 130, 2016.
- SILVA, N. F. Estratégias de estocagem de *Sporothrix spp.* e análise da sensibilidade das cepas ante aos derivados terpênicos farnesol e terpinen-4-ol in vitro. Tese de Mestrado. Disponível: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/11703>, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.
- SILVA, et al. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de saúde pública**, Rio de Janeiro, n. 28, p. 1867-1880, 2012.
- WATANABE, et al. A Case of Sporotrichosis Caused by *Sporothrix globosa* in Japan. **Annals of dermatology**, n. 28, p. 251-252, 2016.

ESTUDO ANATÔMICO E MORFOMÉTRICO DE OSSO LONGO PARA A IDENTIFICAÇÃO DE GÊNERO HUMANO

Elizabete Regina Silva Lucena dos Santos¹, Renatha Claudia Barros Sobreira de Aguiar¹, Yhasminie Karine da Silva¹, Vitor Caiaffo Brito²

¹Mestrandas no programa de Pós-graduação em morfotecnologia, UFPE, Recife,-PE, Brazil.

²Professor do Centro acadêmico do Agreste, UFPE, Brazil.
elizabetelucena@live.com

Resumo

O presente trabalho teve por objetivo identificar e diferenciar o gênero masculino e feminino através de parâmetros morfométricos de tíbias humanas da população brasileira. Foram avaliados 60 pares de tíbias humanas adultas, de indivíduos da população brasileira, providas de ossadas pertencentes à Área de Anatomia do DMFA da UFRPE. Foram realizadas 10 mensurações na face articular do platô tibial. O trabalho adotou uma técnica computacional através do software ImageJ® versão 1.47, onde foram realizadas e avaliadas mensurações do platô da tíbia para a diferenciação dos gêneros masculinos e femininos. Como resultado, o trabalho obteve valores médios maiores para as variáveis morfométricas das tíbias do gênero masculino quando comparadas às variáveis das tíbias do gênero feminino. A partir dos resultados, foi possível a comprovação do dimorfismo de gênero existente na tíbia, podendo este resultado ser de grande confiabilidade para utilização com fins científicos e forenses.

Palavras chave: Morfometria, Tíbia, Morfologia, Anatomia.

1 Introdução

Existem muitas diferenças morfológicas e morfométricas entre o gênero masculino e feminino que podem ser comprovadas através de análises anatômicas, biológicas e/ou fisiológicas. Estas, podem ser percebidas na estrutura corporal de cada um, dando enfoque à morfologia do esqueleto que podem ser primordiais no momento de auxiliar na determinação de gênero através dos ossos, pois o dimorfismo sexual pode se manifestar nas dimensões das estruturas ósseas (HSIAO et al., 1996; ROGERS, 2005).

A determinação do gênero com base em características do esqueleto desempenha um papel crucial na medicina legal e antropologia forense (HSIAO et al., 2010). Nem todas as estruturas do esqueleto humano podem servir como referência para métodos métricos de definição de gênero humano, exames antropológicos ou casos de investigação médico-legal (WALRATH et al. 2004; HARVATI, 2006). Os ossos mais comumente utilizados para identificar o dimorfismo sexual através de morfometria são o osso mandíbula, crânio, pelve, ossos longos e escápula, sobretudo em populações europeias e

americanas. (CUNHA, 2001; COSTA et al. 2016).

Segundo Azevedo (2008), comprovadamente, os ossos longos tem um grande destaque na avaliação do dimorfismo sexual. Dentre estes, encontra-se o osso tíbia, que, por ser um osso longo que suporta grande parte do peso corporal e está diretamente relacionado ao movimento dos membros inferiores, possui fortes características dimórficas (GRAY, 2010). A sua extremidade proximal é de essencial importância, pois através da morfometria dessa região pode-se obter informações que proporciona um método confiável para avaliação dos acidentes ósseos presentes nessa região do joelho, muito importante para fins médicos (GANDHI et al. 2014).

Também, tais parâmetros morfométricos são de suma importância para a área forense, onde proporciona um método de identificação, que é o processo no qual se determina a identidade de uma pessoa ou de uma coisa. Portanto, identificar é determinar uma individualidade e estabelecer caracteres ou conjuntos de qualidades que a fazem diferente de todas as outras e igual apenas a si mesma (DELWING, 2013).

Sabendo-se da importância do dimorfismo sexual para estudos científicos, área médica e para fins das ciências forenses, o presente trabalho tem por objetivo principal investigar a existência do dimorfismo sexual entre os gêneros masculino e feminino e identifica-los através de mensurações morfométricas do platô das tíbias humanas de indivíduos da população brasileira.

2 Material e Métodos

Foram avaliadas 120 de tíbias humanas (60 pares), de cadáveres pertencentes a indivíduos da população brasileira, providas de ossadas pertencentes à Área de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Como critério de exclusão do estudo, foram desconsideradas as tíbias que apresentaram algum tipo de anomalia, que estivessem em avançado estado de deterioração no local da mensuração (platô tibial), que apresentassem traumatismos aparentes ou que o indivíduo tenha apresentado idade inferior a 18 anos no momento da morte.

Como critério de inclusão, foram consideradas para o estudo as tíbias dos indivíduos acima de 18 anos vividos, íntegras, sem sinais de traumatismo ou anomalias aparentes, pois segundo Almeida e Costa (1977) as diferenças entre gêneros só tem destaque após a puberdade, sob influência do ambiente, hormonal e da musculatura.

A idade perfil das amostras variou entre 14 e 98 anos de idade vivente, mas apenas foram consideradas as ossadas dos indivíduos maiores de 18 anos. As ossadas utilizadas no estudo tiveram o período de sepultamento entre dezembro de 2009 a março de 2012, tendo sido exumadas entre o período de abril e maio de 2014, todas providas do cemitério de Santo Amaro, localizado no Recife-PE. O presente trabalho foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de Pernambuco, Número do Parecer: 1.307.166.

O material de estudo foi analisado de forma aleatória, sendo os pares de tíbias organizadas e identificadas por um segundo observador, com uma numeração de 01 à

60. Durante a organização e identificação por numeração, o pesquisador responsável por realizar as mensurações, não teve acesso às informações quanto ao gênero de cada par de tibia.

Após a limpeza e higienização do material de estudo, foram realizadas fotografias dos ossos tibia através da câmera digital profissional Canon® - mod. 40D, utilizando uma lente 50mm. Para um registro fotográfico com visualização cefálica da região do platô tibial. A área mais alta do platô do osso foi posicionada a 21,3 centímetros da lente da câmera que foi posicionada fixamente com auxílio de um tripé.

Para as mensurações, foi utilizada uma técnica computacional através do software ImageJ® versão 1.47. Foram levadas em consideração dez mensurações (Figura 1), onde a determinação destas tomou como base a metodologia de Gandhi et al. (2014):

- 1: A.P.M – Diâmetro anteroposterior da superfície articular superior do côndilo medial;
- 2: T.M. – Diâmetro transversal da superfície articular superior do côndilo medial
- 3: A.P.L. – Diâmetro anteroposterior da superfície articular superior do côndilo lateral
- 4: T.L. – Diâmetro transversal da superfície articular superior do côndilo lateral
- 5.: T.A.I. – Medida transversal anterior da área intercondilar
- 6: T.P.I. – Medida transversal posterior da área intercondilar
- 7: T.M.I. – Medida transversal média da área intercondilar
- 8: A.P.I. – Medida anteroposterior da área intercondilar
- 9: A.I. – Medida anterior da área intercondilar;
- 10: P.I. – Medida posterior da área intercondilar.

Após as mensurações, em todos os pares de tíbias, foram calculadas as respectivas médias e desvio padrão para cada mensuração. Os dados foram submetidos ao teste *Kolmogorov-Smirnov*, utilizando o *software* GraphPad Prism 5.01. Em sequência, foi utilizado o teste *t-student* para a comparação das médias dos dados com distribuição normal. As médias que não apresentaram distribuição normal foram comparadas através de outro teste, o *Mann-Whitney*. Em todos os casos, foi utilizada uma margem de segurança de 95% de confiabilidade.

3 Resultados e Discussão

Após a análise dos critérios de inclusão e exclusão foi verificado que 42 tíbias (21 pares) estavam dentro do critério de exclusão, não sendo consideradas no estudo. Foram consideradas as 78 tíbias (39 pares) restantes, no qual se apresentaram em perfeitas condições para o desenvolvimento do estudo. O presente trabalho demonstrou valores maiores para as variáveis morfométricas das tíbias do gênero masculino quando comparadas às variáveis das tíbias do gênero feminino (Tabela 1).

Todas as mensurações realizadas no trabalho para a avaliação morfométrica entre os gêneros divergiram, logo, foi comprovada a diferenciação entre gêneros através do osso Tibia, constatando assim, seu potencial de dimorfismo. Além de ter sido observado que

as mensurações variaram entre os gêneros, foi observado também que essa variação não foi uniforme, algumas medições apresentaram uma maior amplitude de variação e outras uma menor amplitude de variação.

O principal resultado obtido por este estudo foi a determinação de que os parâmetros de medidas morfométricas da tíbia masculina são maiores do que os parâmetros da tíbia feminina, o que vai de acordo com os resultados de alguns trabalhos disponibilizados literatura (Gandhi et al., 2014; Lim et al., 2013; Mahfouz et al., 2012).

Foi observado que a mensuração da medida transversal anterior da área intercondilar (T.A.I.) obteve a maior diferenciação entre os gêneros, tendo como diferença entre as médias masculina e feminina 0,547cm. Destaca-se também uma alta diferenciação na medida anteroposterior da área intercondilar (A.P.I.), onde a diferença das médias do gênero masculino e feminino foi de 0,544 cm. O estudo de Gandhi et al. (2014) obteve resultados similares ao determinar a mesma medida significativamente maior no gênero masculino comparado ao feminino. O trabalho de Mahfouz et al. (2012) também constatou que o gênero masculino demonstrou ter, em média, a região do joelho 5mm maior ântero-posteriormente do que o gênero feminino.

Assim como o trabalho de Gandhi et al. (2014) que constatou uma diferenciação em menor escala na medida transversal média da área intercondilar (T.M.I.), o presente trabalho também constatou um resultado que vai de acordo com tais autores ao determinar que a menor diferenciação entre os gêneros foi apurada na medida transversal média da área intercondilar (T.M.I.), tendo como diferença entre as médias de apenas 0,113 cm. As demais mensurações apresentaram diferenças médias entre 0,233 e 0,481 cm.

Considerando que pode haver variações na morfologia em diferentes etnias, é comprovado que cada população pode apresentar um padrão morfológico distinto. Devido ao fato da população brasileira ter a característica de ser altamente miscigenada pode apresentar variações nos padrões em detrimento aos demais grupos populacionais. Um estudo realizado por Moghtadaei et al. (2015), apresenta a avaliação morfométrica através de medições por tomografia computadorizada da área proximal da tíbia na população iraniana e compara seus resultados com outros estudos similares realizados com grupos populacionais distintos (China, Coreia, Japão e Índia) e é constatada diferenciação entre tais grupos.

Assim como o presente trabalho confirmou o dimorfismo de gênero no osso da tíbia, há diversos outros ossos presentes no esqueleto humano que podem apresentar a mesma característica de dimorfismo com outros ossos. Conforme Azevedo (2008), os ossos da pelve e do crânio também apresentam dimorfismo.

Como conclusão, O presente estudo comprovou a diferenciação do gênero através das dez mensurações realizadas na área articular do platô tibial, afirmando assim, o alto potencial dimórfico deste osso longo da perna.

Trabalhos utilizando a morfometria na tíbia para tal objetivo ainda se encontram escasso na literatura científica, demonstrando assim a demasiada importância de serem realizados mais estudos como este, uma vez que, tais estudos contribuem de diversas formas para a ciência em geral e para a ciência forense, através de uma metodologia identificação de identidade do gênero através do osso tíbia, por exemplo, em casos criminais.

Tabela I – Valores, em cm, dos parâmetros morfométricos das tíbias dos gêneros masculino, feminino e da diferença entre os gêneros. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	Masculino(cm)	Feminino(cm)	Diferença entre os gêneros (cm)	<i>p</i>
A.P.M.	4,707 $\pm$ 0,406	4,334 $\pm$ 0,317	0,373	<i>p</i> <0,0001 *
T.M.	3,024 $\pm$ 0,307	2,702 $\pm$ 0,298	0,322	<i>p</i> <0,0001 **
A.P.L.	4,023 $\pm$ 0,414	3,549 $\pm$ 0,382	0,481	<i>p</i> <0,0001 *
T.L.	3,405 $\pm$ 0,323	2,991 $\pm$ 0,281	0,414	<i>p</i> <0,0001 **
T.A.I.	3,365 $\pm$ 0,425	2,818 $\pm$ 0,307	0,547	<i>p</i> <0,0001 **
T.P.I.	1,788 $\pm$ 0,307	1,555 $\pm$ 0,222	0,233	<i>p</i> =0,0002 **
T.M.I.	1,167 $\pm$ 0,279	1,054 $\pm$ 0,262	0,113	<i>p</i> =0,0368 **
A.P.I.	5,140 $\pm$ 0,377	4,596 $\pm$ 0,303	0,544	<i>p</i> <0,0001 **
A.I.	2,865 $\pm$ 0,249	2,565 $\pm$ 0,210	0,3	<i>p</i> <0,0001 *
P.I.	2,297 $\pm$ 0,344	2,031 $\pm$ 0,225	0,266	<i>p</i> <0,0001 **

* Diferença estatística entre as tíbias dos gêneros masculino e feminino. Teste *Mann-Whitney*.

** Diferença estatística entre as tíbias dos gêneros masculino e feminino. Teste *t-Student*.

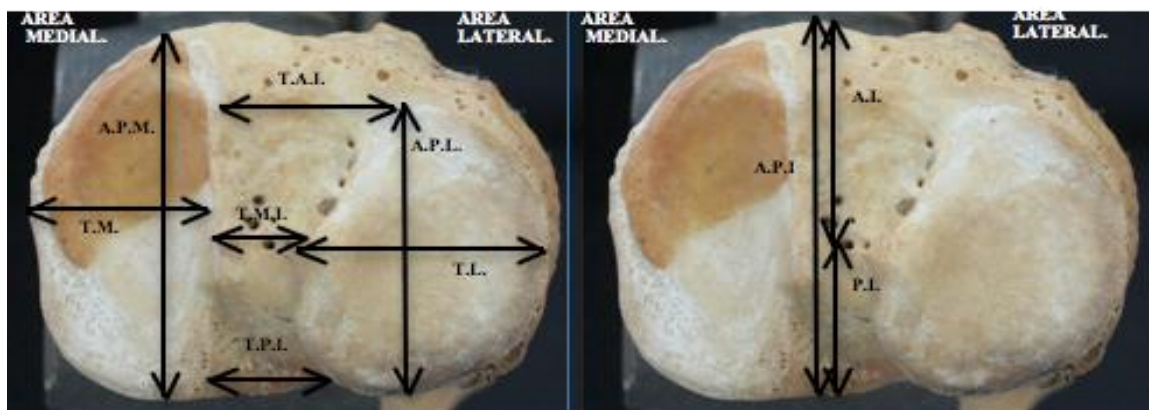


Figura 1: Mensurações a serem realizadas na metodologia. (Fonte: Autor)

4 Agradecimentos e apoios

O presente trabalho é grato a Área de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco por ter cedido o material cadavérico para a realização da pesquisa.

5 Referências

- ALMEIDA, A. J. & COSTA, J. B. O. **Lições de Medicina Legal**. 14 ed. São Paulo, Companhia Editora Nacional, 1977.
- AZEVEDO, J. M. C. A. **A Eficácia dos Métodos de Diagnose Sexual em Antropologia Forense**. Tese Mestrado em Medicina Legal e Ciências Forenses. Lisboa, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, 2008.
- CUNHA, E. **A Paleopatologia como Fator de Individualização em Antropologia Forense. Lição de síntese**. Provas de agregação. Coimbra, Universidade de Coimbra, 2001.
- DELWING, F. **Análise do Dimorfismo Sexual em Adultos através de Medidas Cranianas**. Tese Mestrado em Biologia Buco-dental. Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 2013.
- DI VELLA, G.; CAMPOBASSO, C. P.; DRAGONE, M. & INTRONA, F. JR. **Skeletal sex determination by scapular measurements**. Boll Soc Ital BiolSper. 70(12), p. 299-305. 1994.
- GANDHI, S.; SINGLA, R. K.; KULLAR, J. S.; SURI, R. K.; & MEHTA, V. **Morphometric Analysis of Upper End of Tibia**. Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCD 8(8), p.10–13. 2014.

GRAY, H. GRAY **Anatomia: A Base Anatômica da Prática Clínica**. 40^a ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2010.

HARVATI, K.; WEAVER T. D. **Human Cranial Anatomy and the Differential Preservation of Population History and Climate Signatures**. *The Anatomical Record: Ar; Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*. an Official Publication of the American Association of Anatomists, 288A(12), 1225-1233. 2006.

HSIAO, T. H.; CHANG, H. P.; LIU, K. M. **Sex determination by discriminant function analysis of lateral radiographic cephalometry**. *Journal of Forensic Sciences*. 41(5), p.792–795. 1996.

HSIAO, T. H., TSAI, S. M., CHOU, S. T.; PAN J. Y.; TSENG Y. C.; CHANG H. P.; CHEM H. C. **Sex determination using discriminant function analysis in children and adolescents: a lateral cephalometric study**. *International Journal of Legal Medicine*. 124(2): p.155–160. 2010.

LIM, L.C.; BAE, J.H.; YOON, J.Y.; KIM, S.J.; KIM, J.G.; LEE, J.M. **Gender differences of the morphology of the distal femur and proximal tibia in a Korean population**. *The Knee*. 20(1), p. 26–30. 2013.

MAHFOUZ, M.; FATAH, E.E.A.; BOWERS, L.S.; SCUDERI G. **Three-dimensional Morphology of the Knee Reveals Ethnic Differences**. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 470 (1): p.172-185. 2012.

MOGHTADAEI, M.; MOGHIMI, J.; FARAHINI, H.; JAHANSOUZ, A. **Morphology of proximal tibia in Iranian population and its correlation with available prostheses**. *Med J Islam RepubIrã* . 29(225): p. 225. 2015.

ROGERS, T. L. **Determining the sex of human remains through cranial morphology**. *J Forensic Sci*. May; 50 (3) p. 493-500, 2005.

WALRATH D. E.; TURNER P.; BRUZEK J. **Reliability Test of the Visual Assessment of Cranial Traits for Sex Determination**. *American Journal of Physical Anthropology*. 125(2) : p. 132–137. 2004.

ESTUDO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS PLANTAS DE MANGUE: ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA E IMUNOMODULATÓRIA

Gustavo Miguel da Silva Moraes, Dayane Kelly Dias, Vanessa Silva de Almeida, Lethícia Maria de Souza Aguiar, Cristiane Moutinho Lagos de Melo

Laboratório de Atividades Imunológicas e Antitumorais do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)
moraes.gustavomiguel@gmail.com

Resumo

O uso de plantas medicinais no tratamento de doenças é conhecido desde a antiguidade, sendo mais difundida nos últimos anos após numerosos estudos de produtos naturais com propriedades terapêuticas. Os manguezais representam uma área de alta produtividade biológica e é uma região rica em recursos economicamente importantes explorados pela população costeira humana. *Avicenniaschaueriana*, *ConocarpuserectuseRhizophoramangle*, são espécies encontradas nesta região e são utilizadas na medicina popular no tratamento de infecções, sífilis, anemia, febre, diarreia, úlcera gástrica, entre outras. Objetivamos com esta revisão fornecer uma ampla visão de plantas tradicionalmente medicinais oriundas de manguezais, resumando o conhecimento científico a respeito de diferentes atividades biológicas de recursos manipulados pela população para uma perspectiva de produção farmacêutica.

Palavras chave: Plantas medicinais; Manguezal; *Avicennia schaueriana*, *Conocarpus erectus* e *Rhizophora mangle*

1 INTRODUÇÃO

O uso popular e mesmo tradicional não é suficiente para validar as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros. Nesse sentido, as plantas medicinais não se diferenciam de qualquer outro xenobiótico sintético, e a preconização ou a autorização oficial do seu uso medicamentoso deve ser fundamentada em evidências experimentais comprobatórias de que o risco a que se expõem aqueles que a utilizam é suplantado pelos benefícios que possam advir (Brasil, 1995; Oliveira, 2007).

Plantas medicinais estão presentes em diversos biomas, inclusive nos manguezais. O mangue é um ecossistema de áreas costeiras e estuários dos rios, extremamente adverso por possuir alta salinidade e baixa oferta de oxigênio nos solos lamacentos, além de estar susceptível às variações diárias da maré e do pH do solo, alta temperatura e umidade. (Revathi et al., 2013). Para prosperar nestes ambientes hostis, alterações nos

seus processos fisiológicos ocorreram, resultando na síntese de novos compostos químicos (Edreva et al., 2008; Reyes e Cisneros-Zevallos, 2003).

Os extratos de plantas de manguezais são amplamente conhecidos na medicina popular e exibem propriedades antibacterianas, antifúngicas. *Avicenniaschaueriana*, *Conocarpuserectuse* *Rhizophoramangles* são plantas encontradas no ecossistema mangue, utilizadas pela população para o tratamento de doenças e têm sido objeto de pesquisa de diversos cientistas ao redor do mundo.

2 Manguezal

Os manguezais são comunidades ecológicas diversas e altamente produtivas, que fornecem importantes funções ecossistêmicas (Ghosh et al., 2015). Servem como um importante habitat, viveiro e refúgio, fornecendo alimento para inúmeros organismos, incluindo os seres humanos (Nagelkerken et al., 2008). Além disso, a produção em biomassa dos manguezais é, em média, maior que qualquer outro ecossistema aquático, sendo possível equiparar os valores de biomassa dos manguezais de regiões equatoriais aos de qualquer floresta tropical (Clough, 1992). Os manguezais apresentam pouca diversidade em termos de espécies, principalmente quando comparada a outras florestas tropicais, como a Amazônia e a Mata Atlântica. Esta baixa diversidade é provocada pela alta acidez e salinidade do solo da região, bem como a baixa concentração de oxigênio, fazendo com que as plantas desenvolveram adaptações morfofisiológicas e ecológicas. (Bartz et al., 2015; Kathiresan, 2008). As espécies mais prevalentes na região são quatro: *Rhizophoramangle* L. - Rhizophoraceae, *Laguncularia racemosa* (L.) C. F. Gaertn - Combretaceae, *Avicenniagerminans* (L.) Stearn - Acanthaceae e *Avicenniaschaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke - Acanthaceae, bem como outros gêneros associados, *Conocarpus* - Combretaceae, *Hibiscus* (Malvaceae) e *Spartina* (Poaceae) (Matni et al., 2006; Bernini e Rezende, 2010).

3 *Avicenniaschaueria*

Avicenniaschaueria é uma planta cuja alocação ao nível de família é Acanthaceae, listado como um gênero nativo do Brasil (Souza e Lorenzi, 2008). É conhecida como siriúba, arbórea de médio porte com casca lisa castanho-claro, folhas opostas, esbranquiçadas na face abaxial devido à presença lanugem, flores bissexuais e frutos em cápsulas de uma única semente (Smith et al., 2004). As aplicabilidades do gênero *Avicennia* são das mais variadas. Espécies do gênero *Avicennia* têm importância como estabilizadoras do solo, produção de mel e curtimento do couro. A madeira tem utilidade na construção e como combustível (Smith et al., 2004).

Avaliando a atividade antibacteriana de extratos hidro-alcoólicos de folhas, casca e raiz de *A. schaueriana* Santos et al. (2010) encontraram maiores halos testando os extratos

das raízes contra *Staphylococcus aureus* ATTC 6835, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Os extratos da casca também exibiram atividade inibitória, mas com menores halos. Apresentou atividade antifúngica contra *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum*, onde o extrato bruto do caule teve destaque nesta inibição e as principais substâncias responsáveis por esta atividade foram o lupeol (triterpeno) e a naftoquinona (lapachol) (Fardin e Young, 2011). Apesar de se tratar de uma planta pouco estudada, *A. schaueriana* já revela possuir ações farmacológicas importantes e é preciso então conhecer os efeitos desta planta para dar suporte a posteriores estudos de suas ações biológicas e conhecimento de seus metabólitos bioativos

4 *Conocarpus erectus*

Conocarpus erectus L. é uma árvore perene da família Combretaceae, crescente em linhas costeiras das regiões tropicais e subtropicais em torno do mundo, abundante na paisagem dos manguezais e conhecido popularmente como mangue de botão. (Abdel-Hameed et al., 2012).

Esta espécie é utilizada como remédio popular na anemia, catarro, conjuntivite, gonorreia, diabetes, diarreia, febre, dor de cabeça, sangramento, tumores, orquite, conjuntivite, inchaços e sífilis (Abdel-Hameed et al., 2012; Ayoub, 2010; Shohayeb et al., 2013). As folhas são comidas, ou sua decocção bebida para a febre (Irvine, 1961). A casca e os frutos desta espécie são utilizados na forma de chá no tratamento de diarreia, feridas, hemorroidas e diabetes. A madeira é utilizada para construção de cercas, tornearia, construção de barcos, lenha e paisagismo (Carneiro et al., 2010).

Estudos científicos acerca das propriedades farmacológicas do *C. erectus* comprovam suas propriedades antioxidante, anticancerígena, antibacteriana, antifúngica e hepatoprotetora (Raza et al., 2016; Silva, 2004; Abdel-Hameed et al., 2012, 2013; Shohayeb et al., 2013; Abdel-Hameed et al., 2014). Também foi sugerido que as frações de extratos desta planta poderiam ser uma fonte potente de agente terapêutico na prevenção ou retardamento do processo de envelhecimento e idade associados à oxidação, estresse e doenças degenerativas relacionadas (Ayoub, 2010). A avaliação toxicológica do extrato aquoso de *C. erectus* em ratos albinos suíços classifica o extrato de baixa toxicidade com DL_{50} estimada em 2.000 mg / kg de peso corporal via intraperitoneal (Nascimento et al., 2016). A administração do extrato metanólico desta planta não apresentou toxicidade em camundongos albinos suíços após 24 horas de tratamento. A análise por Cromatografia Líquida de alta eficiência de extratos de acetato de etilo e n-butanol de folhas, caule, flores e frutos de *C. erectus* revelou a presença de ácido gálico, Catequina, apigenina, quercetina, quercetina-3-O-glucosido, kaemferol-3-O-glucosido, Rutina e quercetina-3-O-lucosídeo-6-O-gálico. *Conocarpus erectus* também contém conocarpol e 2'-methoxyconocarpol, lignana do tipo simples 1,4-diarylbutane e conocarpan uma lignana do tipo dehydrodi-*isoeugenol*

(Hayashi e Thomson, 1975). Ácido elágico, vescalagina/castalagina e di-hexa-hidroxiDifenilo, Isômero de galloyl hexose foram identificados no extrato metanólico desengordurado de frutos de *C. erectus*. Glicosídeo trimetoxi-elágico (4-O- β -glucupiranuronido de 3,3', 4'-triO-metilellágico) foi isolado das folhas de *C. erectus* e este composto mostrou efeito inibitório contra o ataque de espécies reativas de oxigênio ao ácido salicílico (Ayoub, 2010).

5 *Rhizophora mangle*

Rhizophoramangle é uma planta da família das Rhizophoraceae conhecida pelo nome popular de sapateiro. Trata-se de uma planta cuja folha, caule, raízes e frutos apresentam variados usos na medicina popular, tais como no tratamento da diabetes, diarreia, disenteria, infecções fúngicas, em furúnculos, como antisséptico, na tuberculose, elefantíase, malária, febre, em pequenas contusões e até mesmo no gesso utilizado em fraturas cuja preparação envolve maceração, chá ou cinzas em água (Coelho-Ferreira, 2009).

Rhizophoramangle foi eficaz na adsorção de metais pesados como o Pb^{2+} em meio aquoso, mostrando-se uma solução tanto ecológica e como economicamente viável para o problema da contaminação aquática por este metal (Horsfall JR; Ogban e Akporhonor, 2005).

Extratos das folhas e caule de *R. mangle* exibiram atividade inseticida contra *Cylasformicarius* (Coleoptera: Curculionidae) desempenhada por triterpenóides que agem sinergicamente entre si e com outros compostos que potencializam este efeito apontando seu potencial como uma nova fonte de produtos inseticidas de origem natural, os quais são mais bem tolerados e de degradação mais rápida no ambiente do que aqueles de origem sintética (Williams, 1999).

O extrato aquoso da casca de *R. mangle* mostrou atividade antimutagênica frente ao metil metanosulfonato em ensaios utilizando *Allium cepa* e em células do ovário de Hamster chineses avaliadas com o teste do micronúcleo, onde foram constatados uma diminuição da formação dos micronúcleos e de quebras cromossômicas tanto no pré como no pós-tratamento possivelmente devido ao elevado conteúdo de taninos, os quais agem estabilizando radicais livres (Malini et al., 2010). Os taninos estão entre os principais compostos polifenólicos de *R. mangle*, incluindo taninos poliméricos e hidrolizáveis (Berenger et al., 2006).

Extratos de *R. mangle* possuem efeitos benéficos diversos sobre órgãos do sistema digestivo avaliados em trabalhos recentes. De uso tradicional na medicina como antiulcerogênica, teve esta aplicação popular confirmada pelos estudos de De-Faria et al. (2012) com extratos bruto, etilacético e frações butanólicas da casca desta planta em todas as doses testadas por meio da elevação dos níveis de prostaglandina 2 (PGE_2), *upregulation* da ciclooxygenase 2 (COX-2) e do fator de crescimento epidermal (EGF).

O resultado foi um efeito citoprotetor, antissecretório e cicatrizante sobre a mucosa gástrica o que coloca esta planta como uma possível opção terapêutica ao tratamento da úlcera gástrica e de baixa toxicidade, a qual não foi observada nos testes deste estudo. Esta propriedade farmacológica também foi confirmada por Perera et al. (2010). Em sua composição, o extrato aquoso da casca revelou uma elevada composição de ácidos graxos de cadeia longa e insaturados, representados principalmente pelo ácido palmítico e ácido oleico.

6 Agradecimentos e apoios

Agradecemos ao apoio dos laboratórios de Glicoproteínas, de Atividades Imunológicas e Antitumorais, de Bioquímica de Proteínas e de Biofísica nos quais realizamos os nossos experimentos.

7 Referências

- Abdel-Hameed, E. S.; Bazaid, S.A.; Shohayeb, M.M. RP-HPLC–UV–ESIMS phytochemical analysis of fruits of *Conocarpus erectus* L. **Chemical Papers**. v. 68, n. 10, p. 1358–1367, 2014.
- Abdel-Hameed, E. S.; Abdel, S. A. B.; Sabra, N. A. Protective effect of *Conocarpus erectus* Extracts on CCl 4-Induced chronic liver injury in mice. **Global Journal of Pharmacology**. v. 7, n. 1, p. 52-60, 2013.
- Abdel-Hameed, E. S.; Bazaid, S. A.; Shohayeb, M. M.; El-Sayed, M. M.; El-Wakil, E. A. Phytochemical studies and evaluation of antioxidant, anticancer and antimicrobial properties of *Conocarpus erectus* L. Growing in Taif, Saudi Arabia. **European Journal of Medicinal Plants**. v. 2, n. 2. p. 93-112, 2012.
- Ayoub, N. A. A trimethoxyellagic acid glucuronide from *Conocarpus erectus* leaves: Isolation, characterization and assay of antioxidant capacity. **Pharm. Biol.** v. 48, n. 3, p. 328-332, 2010.
- Bartz, M. C.; Júnior, J. C. F. M.; Larcher. L. Variação morfológica de *Laguncularia racemosa* (L.) C. F. Gaertn. (Combretaceae) em áreas de manguezal e de transição entre manguezal e floresta de restinga. **Biotemas**. v. 28, n. 1, p. 21-29, 2015.
- Bernini, E.; Rezende, C. E. Variação estrutural em florestas de mangue do estuário do Rio Itabapoana, ES-RJ. **Biotemas**. v. 23, n. 1, p. 49-60, 2010.
- Clough, B. F. Primary productivity and growth of mangrove forests. **Tropical Mangrove Ecosystems**. 1992.
- Coelho-Ferreira, M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v.126, p.159-175.
- De-Faria, F. M., Almeida, A.C.A., Ferreira, A.L., Dunderb, R. J.,Takayamab, C., Silva., M.S., Silva, M. A., Vilegasc, W., Rozzad, A. L., Pellizzond, C. H., Tomae, W., Souza-Brito, A.R.M., 2012. Mechanisms of action underlying the gastric antiulcer activity of the *Rhizophora mangle* L. **Journal of Ethnopharmacology**. 139: 234– 243

- Edreva, A., Velikova, V., Tsonev, T., Dagnon, S., Gurel, A., Aktas, L., Gesheval, E., 2008. Stress-protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. **Gen Appl Plant Physiol.** 34 (1-2): 67-78.
- Fernandez, O., Capdevila, J.Z., Dalla, G., Melchor, G., 2002. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. **Fitoterapia.** 73: 564–568.
- Ghosh, A.; Schmidt, S.; Fickert, T.; Nüsser, M. The Indian Sundarban Mangrove Forest: History, Utilization, Conservation Strategies and Local Perception. **Diversity.** v. 7, n. 2, p. 149-169, 2015.
- Hayashi, T.; Thomson, R. H. New lignans in *Conocarpus Erectus*. **Phytochemistry.** v. 14, n.4, p. 1085-1087. 1975.
- Horsfall JR, M.; Ogban, F.; Akporhonor, E. E. Biosorption of Pb^{2+} from aqueous solution by waste biomass of aerial roots of *Rhizophoramangle* (Red Mangrove). **Chemistry & Biodiversity,** v.2, p.1246-1255, 2005.
- Kathiresan, K. Methods of study mangroves. 2008. p. 116-125. **Center of Advanced Study in Marine Biology** Disponível em: <
<https://pt.scribd.com/document/199644804/Methods-of-Studying-Mangroves>> Acesso em: jun. 2017.
- Lorenzi, H., Souza, V. C. Botânica sistemática: guia ilustrado para a identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2º Ed. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, Nova Odessa, SP, 2008.
- Malini, M. et al. Determination of the antimutagenicity of an aqueous extract of *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae), using *in vivo* and *in vitro* test systems. **Genetics and Molecular Biology,** v.33, p.1-6, 2010.
- Marrero, E., Sánchez, J., Armas, E., Escobar, A., Melchor, G., Abad, M. J., Bermejo, P., Villar, A. M., Megías, J., Alcaraz, M. J, 2006. COX-2 and sPLA2 inhibitory activity of aqueous extract and polyphenols of *Rhizophora mangle* (red mangrove). **Fitoterapia** 77, 313–315.
- Matni, A. S.; Menezes, M. P. M.; Mehlig, U. Caracterização estrutural dos bosques de mangue na Península Bragatina. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. **Ciências Naturais.** v. 3, n. 2, p. 45-54, 2006.
- Melchor, G., Armenteros, M., Fernandez, O., Linares, E., Fragas, I., 2001. Antibacterial activity of *Rhizophoramangle* Bark. **Fitoterapia.** 72: 689-691.
- Nascimento, D. K. D.; Souza, I. A.; Oliveira, A. F. M.; Barbosa, M. O.; Santana, M. A. N.; Júnior, D. F. P.; Lira, E. C.; Vieira, J. R. C. Phytochemical screening and acute toxicity of aqueous extract of leaves of *Conocarpus erectus* Linnaeus in swiss albino mice. **Acad. Bras. Ciênc.** v. 88., n. 3, p. 1431-1437, 2016.
- Nagelkerken, I.; Blaber, S. J. M.; Bouillon, S.; Green, P.; Haywood, M.; Kirton, L. G.; Meynecke, J.-O.; Pawlik, J.; Penrose, H.M.; Sasekumar, A.; et al. The habitat function of mangroves for terrestrial and marine fauna: A review. **Aquat. Bot.** v. 89, n. 2, p. 155–185, 2008.

Oliveira, C.J.; Araújo, T.L. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, Vol. 9, p. 93-105, 2007.

Perera, L.M.S., Escobar, A., Souccar, C., Remigio, M.A., Mancebo, B., 2010. Pharmacological and toxicological evaluation of *Rhizophora mangle* L., as a potential antiulcerogenic drug: Chemical composition of active extract. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**. 2 (4): 56-63.

Perera, L. M. S.; Escobar, A.; Souccar, C.; Remigio, M. A.; Mancebo, B. Pharmacological and toxicological evaluation of *Rhizophora mangle* L., as a potential antiulcerogenic drug: Chemical composition of active extract. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v.2(4), p.56-63, 2010.

Raza, M.A.; Anwar, F.; Shahwar, D.; Majeed, A.; Mumtaz, M.W., Danish, M.; Nazar, M.F.; Perveen, I.; Khan, S.U. Antioxidant and antiacetylcholine esterase potential of aerial parts of *Conocarpus erectus*, *Ficus variegata* and *Ficus maclellandii*. Pak. **J. Pharm. Sci.** v.29, n. 2, p. 489-495, 2016.

Revathi, P., Senthinath T. J., Thirumalaikolundusubramanian, P.; Prabhu, N. Medicinal Properties of Mangrove Plants – an overview. **International Journal of Bioassays**, v. 2, n.12, p. 1596-1600, 2013.

Reyes, L.F., Cisneros-Zevallos, L. 2003. Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purple-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). **J Agric Food Chem.** 51 (18): 5296-300.

Sánchez, J., Melchor, G., Martínez, G., Escobar, A., Faure, R., 2006. Antioxidant activity of *Rhizophora mangle* bark. **Fitoterapia**. 77: 141–143.

Shohayeb, M. M.; Abdel-Hameed, E. S.; Bazaid, S. A. Antimicrobial Activity of Tannins and Extracts of Different Parts of *Conocarpus Erectus* L. **Biological Sciences**.v. 3, n. 2, p.544-553, 2013.

Silva, M. R. O. **Detecção da atividade antifúngica de extratos de plantas do manguezal de Vila Velha**, Itamaracá-PE. 2004. 49 f. Dissertação (Pós-Graduação em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2004

Williams, L. A. D. *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) triterpenoids with insecticidal activity. **Naturwissenschaften**, v.86, p.450-452, 1999.

ESTUDO DO COEFICIENTE ALOMÉTRICO DA RELAÇÃO COMPRIMENTO-PESO DO PEIXE- GALO (*SELENEBROWNII*) CAPTURADO NA PESCA DE CURRAIS DO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO

**Victor Sacramento Dias^{1,2}, Vívian Graziela Oliveira Carneiro¹, David Nunes
Aguiar Bruzaca¹, Humber Agreli de Andrade¹**

¹ Laboratório de Modelagem Estatística Aplicada, Departamento de Pesca e Aquicultura
– UFRPE, Recife, 52171-900, Brasil; ; ² Bolsista no Programa de Educação Tutorial
PET-Ecologia/UFRPE.
victorecopesca@gmail.com

Resumo

Este trabalho apresenta a relação comprimento-peso do peixe-galo (*Selenebrownii*) coletado em quarto currais ativos em Pontas de pedra, litoral norte do estado de Pernambuco. Foram analisadas 72 espécimes com comprimento padrão entre 76 e 195 mm. Os valores dos coeficientes b foram testados em relação à isometria ($b=3$) através de teste t de Student. O valor do coeficiente b variou entre 2,718–3,046, com 95% de confiança, tendo sido constatada um comportamento isométrico para a espécie estudada.

Palavras chave: Comprimento, currais, peixe-galo, isometria, pesca, peso.

1 Introdução

A informação sobre o peso e o comprimento das espécies de peixes pode ser usada para estimar o peso de uma determinada espécie através da pesquisa sobre o comprimento do grupo de indivíduos, e vice-versa (VIANNA, 2004), o que torna mais fácil descrever o crescimento dos indivíduos analisados, sem considerar sua idade. A relação comprimento-peso é usada para comparar a morfometria interespecífica e intrapopulacional, e determinar o índice de bem-estar do peixe (BOLGER; CONNOLY, 1989).

Alguns gêneros que compõe a família Carangidae, como *Caranx*, *Trachinotus* ou *Selene*, possuem grande importância comercial devido ao tamanho expressivo que as suas espécies podem alcançar, sendo o último de menor valor comercial, porém bastante apreciado na pesca esportiva, são conhecidos popularmente por peixe-galo. Ao longo da costa do nordeste do Brasil, pequenos jovens de peixe-galo são capturados em águas rasas, enquanto adultos são capturados em montes subterrâneos (LIMA FILHO et al., 2006).

Por habitar zonas costeiras, o peixe-galo é capturado com frequência por diversos aparelhos de pesca inseridos em seus habitats, como redes de arrasto, mangotes e currais, mesmo não sendo o alvo principal da pesca. No litoral norte do estado de Pernambuco concentra-se a maior parte da produção de pescado do estado, destacando-

se o município de Goiana, que tem a pesca de curral como uma das principais atividades contribuintes para a produção pesqueira da região, sendo responsável, em 2006, por 67% de toda a produção pesqueira via pesca de curral no estado de Pernambuco (IBAMA/CEPENE, 2008). Diante do exposto, o presente trabalho apresenta estimativas da relação comprimento-peso do peixe-galo (*Selenebrownii*) (Figura 1) capturado na pesca de currais em Goiana, litoral norte do estado de Pernambuco.

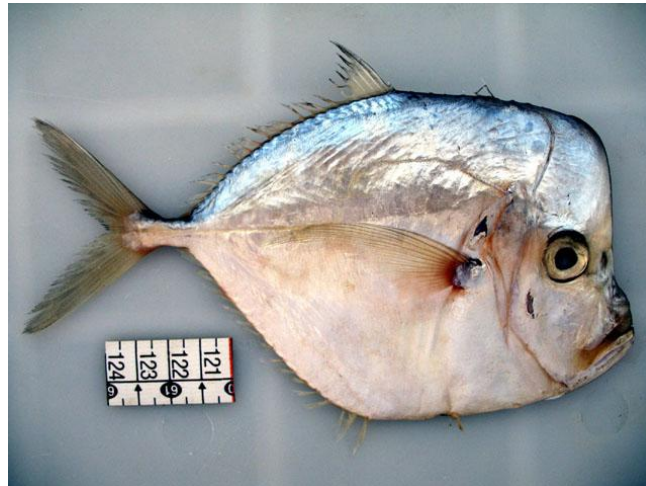


Figura 1. Peixe-galo (*Selenebrownii*) FONTE: Fishbase, 2017.

2 Material e Métodos

As coletas foram realizadas em quatro currais ativos localizados em Pontas de Pedras, distrito do município de Goiana no estado de Pernambuco. Foram analisados 72 exemplares de peixes-galo coletados entre fevereiro e dezembro de 2015. A relação comprimento-peso foi estimada para os sexos agrupados através da seguinte equação (LE CREN, 1951):

$$(1) \quad P = a C^b$$

em que P é o peso total (em g); C é o comprimento padrão (em mm); a é a interceptação da curva de regressão (intercepta P quando C é zero ou coeficiente de crescimento inicial) e b é a inclinação de regressão (coeficiente indicativo de crescimento isométrico ou alométrico).

O parâmetros a e b foram estimados após transformação logarítmica:

$$(2) \quad \log(P) = a' + b' \log(C)$$

em que $a' = \log(a)$ e $b' = b$.

O teste t de Student foi utilizado para verificar a existência de diferenças significativas entre os valores b, quando perto de isometria ($b = 3$), respeitando o intervalo de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$). A correlação entre P e C foi verificada pela análise de Pearson através de r-quadrado (R^2). Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o programa R 3.3.1 (R Core Team, 2016).

3 Resultados e Discussão

O comprimento padrão variou entre 76 e 195mm, média de 141,8 mm (Figura 2A) o peso total variou entre 13,00 e 230,52 g, média de 97,99 g (Figura 2B).

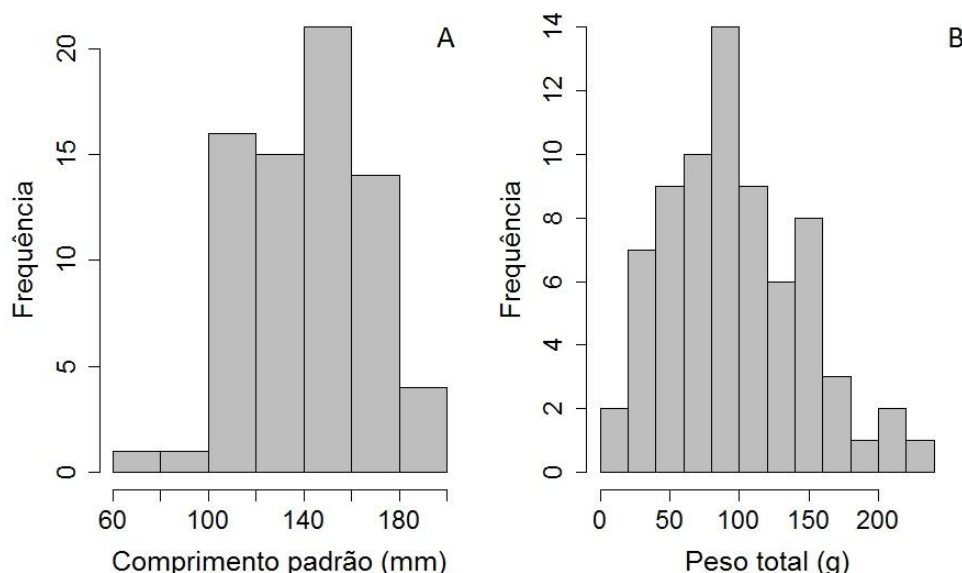


Figura 2. Distribuição de frequência do comprimento padrão (A) e peso total (B) do peixe-galo (*Selene brownii*) capturado por currais em Pontas de Pedra, Goiana-PE.

Os parâmetros estimados pela relação comprimento-peso estão apresentados na Tabela 1. O coeficiente angular estimado foi de 2,882, a partir do teste t podemos afirmar que o *Selene brownii* apresenta um crescimento do tipo isométrico ($b=3$), ou seja, que indica um crescimento ontogênico constante, ou seja, que as proporções do corpo não mudam, o que é muito importante para a identificação de juvenis, uma vez que as chaves taxonômicas são baseadas nas características dos adultos. A curva apresenta ajuste relativamente bom com a existência de poucos exemplares com valores discrepantes (Figura 3). O valor da inclinação da RCP ocorreu dentro do intervalo esperado, entre 2,50 e 3,50, como demonstrado por Froese (2006). Porém, em um estudo do coeficiente alométrico no Golfo do México a espécie apresentou tanto crescimento isométrico quanto alométrico negativo (FARÍAS-TAFOLLA et al., 2015). E alométrico positivo na costa de Pernambuco (VIANA et al., 2016). Essa diferença pode ser associada as diferenças da arte de pesca em diferentes momentos (VIANNA et al., 2004).

Tabela 1. Estimativas dos parâmetros da relação comprimento-peso (RCP) para peixe-galo (*Selenebrownii*) capturado em Pontas de Pedra, Goiana-PE.

Parâmetros	
a	$5,623 \times 10^{-5}$
IC 95% a	$2,499 \times 10^{-5} - 1,264 \times 10^{-4}$
b	2,882
IC 95% b	2,718–3,046
t_b	-1,432
P	0,1424
R^2	0,91

a= valor do intercepto; b = valor do coeficiente angular; IC 95% = intervalo de confiança; t_b = resultado do teste t para b; p= probabilidade do teste t; R^2 = coeficiente de Pearson

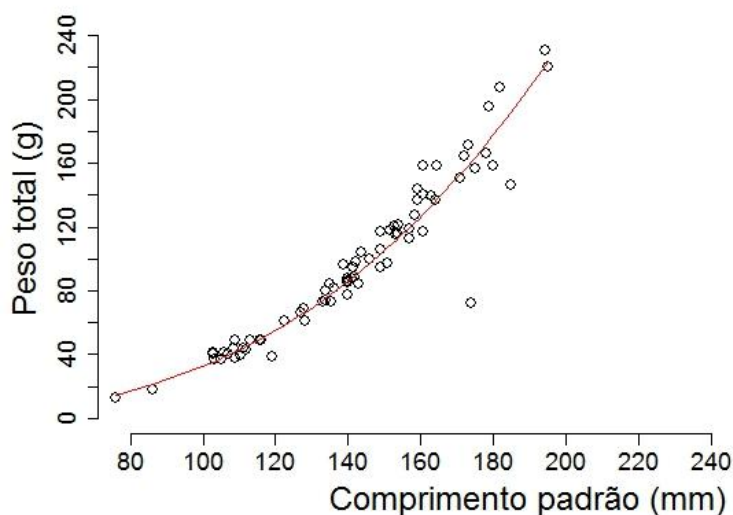


Figura 3. Relação comprimento padrão-peso total do peixe-galo (*Selenebrownii*), sexos agrupados, capturado em Pontas de Pedra, Goiana-PE.

4 Referências

- BOLGER, T.; CONNOLLY, P.L. The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition. **Jour. Fish Biol.** 34: 171-182. 1989.
- FARÍAS-TAFOLLA, B. et al. Comparison of the Allometry Coefficient of the Length-Weight and Length-Length Relationship between *Selene brownii*, *S. vomer* and *S. setapinnis* Caught in the Gulf of Mexico. **Int. j. morphol**, v. 33, n. 4, p. 1237-1241, 2015.
- FROESE, Rainer. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. **Journal of applied ichthyology**, v. 22, n. 4, p. 241-253, 2006.

IBAMA / CEPENE. 2008 Monitoramento da atividade pesqueira no litoral nordestino: **projeto estatpesca. Tamandaré**. 384p.

LE CREN, E.D. The length - weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). J. Anim. Ecol., Oxford, v. 20, p. 201-219, 1951.

LIMA FILHO, José de Melo et al. Morphological discrimination in juveniles of two *Selene* Species (Teleostei: Carangidae) using truss net distances. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 49, n. 2, p. 231-238, 2006.

VAZZOLER, A. E. A. M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. **Maringá: Eduem**, v. 169, 1996.

VIANA, A. P. et al. Length-weight relations of 70 fish species (actinopterygii) from tropical coastal region of Pernambuco, Northeast Brazil. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 46, n. 3, p. 271, 2016.

VIANNA, M., COSTA, F.E.S.; FERREIRA, C.N. Length-weight relationship of fish caught as by-catch by shrimp fishery in the southeastern coast of Brazil. Bol. Inst. Pesca 30(1):81-85. 2004.

EXTRATO DE FLORES DE *MORINGA OLEIFERA* (MORINGACEAE) CAUSA MORTALIDADE DE LARVAS E MALFORMAÇÕES EM ADULTOS DE *PLUTELLA XYLOSTELLA* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)

Ferreira, Camila A.¹, Almeida, Welton A.^{1,2}, Silva, Giovanna M.¹, Santos-Neto, Erasmo G.¹, Silva, Pedro R. C.¹, Pontual, Emmanuel V.¹

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE. ²Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE.
camila-azevedoo@hotmail.com

Resumo

Plutella xylostella ataca culturas de couve. Este trabalho investigou o extrato aquoso de flores de *Moringa oleífera* quanto à presença de inibidores de tripsina e toxicidade para larvas de *P. xylostella* no primeiro instar (L₁). Discos de couve tratados com o extrato de flores ou água destilada (controle) foram oferecidos às L₁ por 24h. Em seguida, a sobrevivência foi acompanhada até a completa emergência de adultos no controle. A atividade inibidora no extrato foi avaliada utilizando a enzima tripsina e o substrato BApNA. O extrato de flores a 0,2% (m/v) inibiu a tripsina em 95% e matou L₁ com resposta dose dependente, seguindo uma regressão polinomial de ordem 2. Das larvas que sobreviveram nos grupos tratados, emergiram adultos com malformações nas asas ou que não conseguiram sair do casulo. Em conclusão, o extrato de flores é tóxico para *P. xylostella* por matar larvas ou prejudicar a viabilidade dos adultos.

Palavras chave: inseticida natural, inibidor de tripsina, larvicida, malformações, traça-das-brássicas.

1 Introdução

Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae) é uma praga agrícola popularmente conhecida como traça-das-brássicas, sendo responsável por prejudicar o cultivo comercial de *Brassica oleracea* no Brasil (DICKSON *et al.*, 1990). É um inseto de ciclo curto, cuja temperatura é fator determinante, pois em condições mais quentes o ciclo se completa em torno de 12 dias, enquanto em dias frios esse período varia de 15 a 20 dias. O número de gerações está em torno de cinco a 10 por ano, dependendo das condições climáticas e da disponibilidade de alimento, o que faz com que as populações dessa praga variem muito de um ano a outro (DIAS *et al.*, 2004).

As fêmeas de *P. xylostella* ovipositam preferencialmente na face inferior de folhas de brássicas e, após a eclosão dos ovos, as lagartas de primeiro instar “minam” as folhas, alimentando-se do parênquima por dois ou três dias. Em seguida, abandonam as “minas” e passam a alimentar-se da epiderme, perfurando as folhas e inutilizando-as

para a comercialização. Quando completam o desenvolvimento larval, composto por quatro instares, as lagartas empupam no interior de um pequeno casulo de seda produzido por elas na face inferior das folhas (IMENES *et al.*, 2002). Tem sido relatada a ocorrência de populações de *P. xylostella* resistentes aos inseticidas químicos atualmente utilizados e, por isso, novas medidas de controle economicamente viáveis e mais ecologicamente corretas têm sido necessárias (THULER, 2006).

Moringa oleifera Lamarck (*Moringaceae*) é uma hortaliça perene e arbórea nativa do norte da Índia e atualmente encontrada em vários países dos trópicos. A amplitude de seu cultivo se deve à elevada capacidade de adaptação a condições climáticas e a solos áridos, pouco férteis e secos. Seu crescimento é rápido, porém não alcança grandes alturas. Foi introduzida no Brasil como planta ornamental (ANWAR *et al.*, 2007), mas atualmente suas folhas, frutos verdes, flores e sementes são amplamente explorados por apresentar quantidades representativas de nutrientes (OKUDA *et al.*, 2000). Diversos programas de divulgação da *M. oleifera* têm sido realizados no Brasil e no mundo visando estimular seu plantio e utilização devido ao forte potencial biotecnológico dessa planta (FERREIRA, 2008).

Sementes de *M. oleifera* contêm lectinas com atividade inseticida (OLIVEIRA *et al.*, 2011) e as flores apresentam antioxidantes, lectinas, inibidor de tripsina e alcaloides antimicrobianos (SÁNCHEZ-MACHADO *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2011). O extrato aquoso de flores de *Moringa oleifera* foi previamente reportado como fonte de compostos inseticidas contra *Aedes aegypti* (PONTUAL *et al.*, 2012; PONTUAL *et al.*, 2014). Com base neste conhecimento prévio, o presente trabalho apresenta os resultados da investigação do potencial larvicida do extrato de flores de *M. oleifera* contra traças-brássicas *P. xylostella*.

2 Material e Métodos

Obtenção do extrato de flores

Flores frescas (50 g) de *M. oleifera* foram homogeneizadas com 100 mL de água destilada (5 min) utilizando o liquidificador. A mistura foi filtrada em gaze e centrifugada (3.000 xG; 15 min) e o sobrenadante límpido correspondeu ao extrato de flores. Em seguida o extrato foi liofilizado e ressuscitado em água destilada para se obter uma solução estoque de concentração 2,0% (peso seco/volume).

Investigação da presença de inibidores de tripsina no extrato de flores

A investigação da presença de atividade inibidora de tripsina no extrato de flores foi realizada em placas de microtitulação. Uma solução de tripsina bovina de origem comercial (5 µL, 0,1 mg/mL, em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0 contendo CaCl₂ 0,02 M) foi incubada o extrato de flores nas concentrações (0,5%, 1%, 1,5% e 2%, m/v). Em seguida, foram adicionados 5 µL do substrato N-α-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) e o volume de cada poço foi ajustado para 200 µL do tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0. Foram realizados controles do substrato (ausência da enzima e do extrato), do extrato (ausência de enzima e substrato) e enzima 100% (ausência do extrato). A capacidade do extrato em inibir a tripsina comercial foi investigada utilizando N-benzoil-L-arginina-p-nitroanilida (BAPNA). A inibição foi medida por

meio da atividade residual das enzimas e expressas em relação à hidrólise dos substratos promovida na ausência do extrato de flores.

Bioensaios larvicida

Larvas de *P.xylostella* foram obtidas a partir de uma cultura mantida em folhas de couve, em condições controladas ($26 \pm 1^\circ \text{C}$; fotoperíodo de $11 \pm 0,5 \text{ h}$; 65-70% de umidade relativa), no laboratório de Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Larvas no primeiro instar (L_1) foram utilizadas nos bioensaios.

O ensaio larvicida foi realizado de acordo com LINGATHURAI *et al.* (2011). Discos de folhas de couve frescas (3 cm de diâmetro) foram perfuradas com uma agulha e imersos (13 segundos) em diferentes concentrações (0,5-2%, m/v) do extrato de flores ou em água destilada (controle). Após secagem ao ar durante 40 min, um disco de folha de couve tratado foi colocado numa placa de petri e oferecido às L_1 de *P. xylostella* (sem alimentação por 4 h) em placas de Petri, durante 24h. Após esse tempo, as larvas foram continuamente mantidas alimentadas com discos de couve não tratados, trocados após 48h. O experimento foi realizado em triplicata e cada placa recebeu um total de 10 larvas. A mortalidade das larvas foi acompanhada diariamente, até a completa emergência de adultos no grupo controle.

3 Resultados e Discussão

Os relatos prévios de potencial inseticida do extrato aquoso de flores de *M. oleifera* contra larvas de *A. aegypti*, juntamente com a importância econômica de *P. xylostella* como praga agrícola estimularam as investigações descritas neste trabalho.

A tripsina é uma enzima responsável pela digestão de proteínas cuja expressão ubíqua por microorganismos e animais, incluindo os insetos tem sido relatada (PONTUAL *et al.*, 2012). Dessa forma, a ingestão de inibidores de tripsina pode prejudicar o processo de digestão pelos insetos e outros animais. A caracterização da presença de atividade inibidora de tripsina no extrato de flores de *M. oleifera* foi realizada aqui com o objetivo de padronizar o extrato, garantindo uma amostra ativa, semelhantemente àquela previamente descrita como agente inseticida.

O ensaio para avaliação da presença de inibidores de tripsina mostrou que o extrato a 0,2% (m/v) foi capaz de inibir a hidrólise do BApNA (Figura 1). Por outro lado, no experimento controle o substrato foi clivado, caracterizando uma atividade hidrolítica de cerca de 99,8%. Este resultado indica que o extrato de flores utilizado neste trabalho apresenta um conteúdo de inibidor de tripsina semelhante ao utilizado por Pontual *et al.* (2012).

O ensaio de atividade larvicida revelou que o extrato de flores apresentou toxicidade aguda quando ingerido por larvas L_1 de *P. xylostella* (Figura 2), causando mortalidade de $60 \pm 10 \%$ para o extrato a 2%. A curva de mortalidade das larvas revelou uma resposta dose dependente, seguindo uma regressão polinomial de ordem 2 com valor com $R^2 = 0,99$.

Semelhantemente aos resultados apresentados neste relatório, o extrato de flores de *M.*

oleifera foi também capaz de causar mortalidade de larvas de *A. aegypti* nos estágios L₂, L₃ e L₄ e de larvas de larvas L₁ recém eclodidas (PONTUAL *et al.*, 2012; PONTUAL *et al.*, 2014).

Interessantemente, ao acompanharmos o desenvolvimento das larvas que permaneceram vivas após o bioensaio de atividade larvicida, foi observado que o tratamento com o extrato de flores resultou na emergência de insetos adultos com malformação de asas, incluindo atrofia (Figuras 3B e 3C), asas sem motilidade (Figura 3D) e dificuldade para sair do casulo (Figuras 3B e 3C).

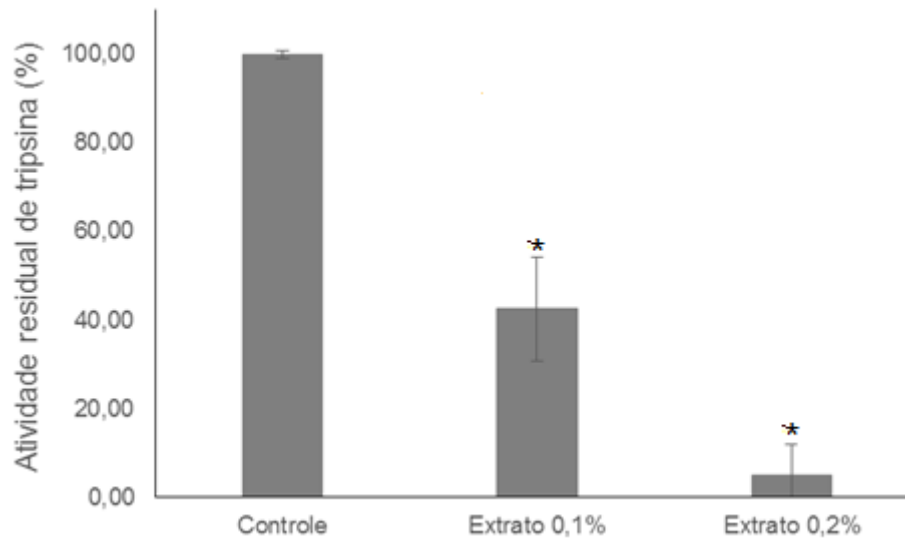


Figura 1: Atividade inibidora de tripsina no extrato de flor de *M.oleifera*. O asterisco indica diferença significativa em relação ao controle determinada pelo teste T de Student ($p < 0,05$).

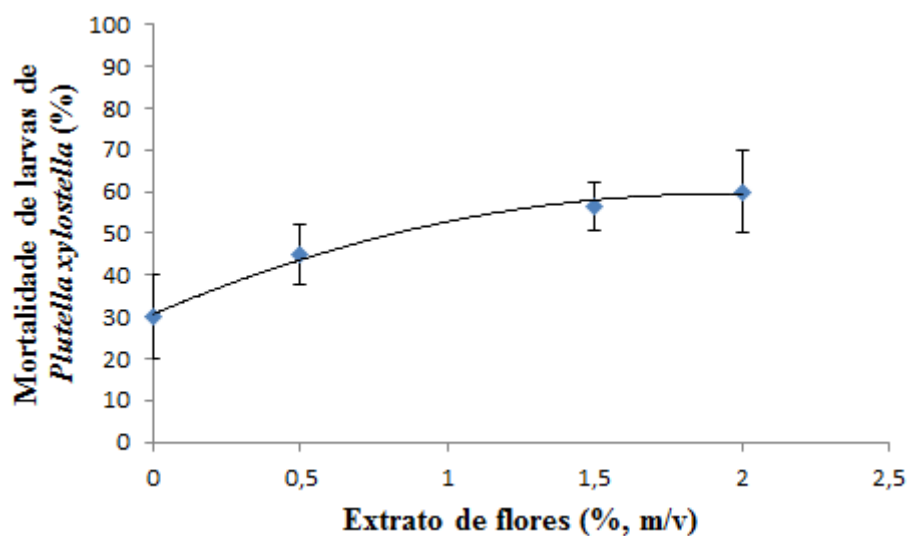


Figura 2: Mortalidade de larvas de *P. xylostella* tratadas com o extrato de flores de *M. oleifera*. Água destilada foi utilizada como solução controle.

Em conclusão, os resultados aqui apresentados revelam que o extrato de flores de *Moringa oleifera* apresentou atividade inibidora de tripsina, causou mortalidade de larvas de *P. xylostella* e foi capaz de induzir a emergência de insetos adultos com malformações.

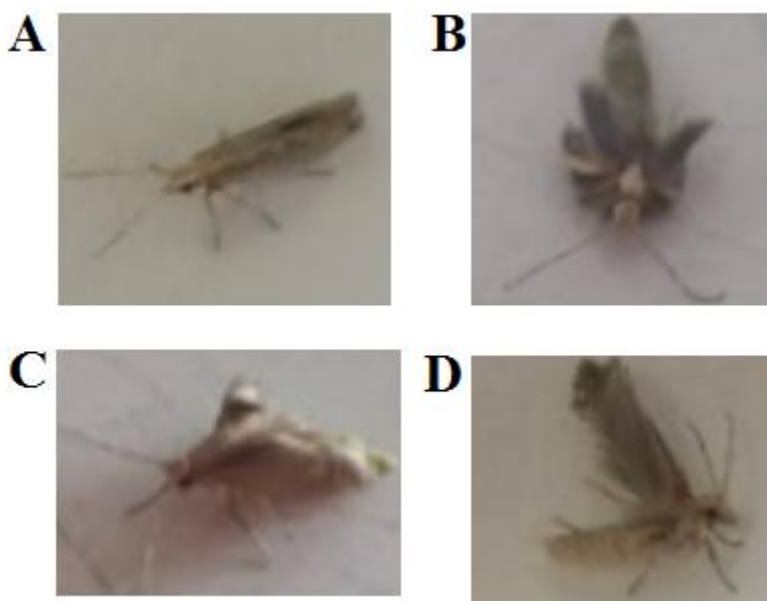


Figura 3: Malformações causadas em adultos de *Plutella xylostella* por tratamento de larvas com o extrato de flores de *Moringa oleifera*. (A) Inseto adulto emergido a partir de larva tratada com solução controle (água destilada). Insetos adulto emergido a partir de larva tratada com extrato de flores de *M. oleifera* (2%) apresentando malformações de asa (B, C e D) ou sem conseguir sair do casulo (B e C).

4 Agradecimentos e apoios

CNPq, FACEPE, CAPES, UFRPE e UFPE

5 Referências

- ANWAR, F.; SAJID, L.; MUHAMMAD, A.; ANWARUL, H.G. **Moringa oleifera: A Food plant with multiple medicinal uses**. Phytother. Res., v. 21, p.17- 25, 2007.
- DIAS, D. G. S.; SOARES, C. M S.; MONNERAT, R.; **Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve-flor**. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 22, n. 3, p. 553-556, 2004.
- DICKSON, M. H.; SHELTON, A. M.; EIGENBRODE, S. D.; VAMOSY, M. L.;

MORA, M.; **Selection for resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage**. Hortscience, Alexandria, v. 25, n. 12, p. 1643-1646, 1990.

FERREIRA, P.M.P.; FARIAS D.F.; OLIVEIRA, J.T.A.; CARVALHO, A.F.U. **Moringa oleifera : compostos bioativos e potencialidade nutricional**. Rev. Nutr., v.21, n.4, p.431-437, 2008.

IMENES, S. D. L.; CAMPOS, T. B. de ; RODRIGUES NETTO, S. M.; BERGMANN, E. C.; **Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 81-84, 2002.

LINGATHURAI, S.; VENDAM V, S.E.; PAULRAJ, M.G.; IGNACIMUTHU, S.; **Antifeedant and larvicidal activities of *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbiaceae) against *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) larvae**. J. King Saud Univ. Sci. 23, 11–16, 2011.

MOURA MC.; PONTUAL EV.; GOMES FS.; NAPOLEÃO TH.; XAVIER HS.; PAIVA PMG.; COELHO LCBB.; **Preparations of *Moringa oleifera* flowers to treat contaminated water**. In: Daniels AJ, editor. Advances in environmental research, Vol. 21. New York: Nova Publishers Inc. p 269–275, 2011.

OLIVEIRA CFR.; LUZ LA.; PAIVA PMG.; COELHO LCBB.; MARANGONI S.; MACEDO MLR.; **Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects**. Process Biochem 46:498–504, 2011.

PONTUAL, E.V., NAPOLEÃO, T.H., ASSIS, C.R.D., BEZERRA, R.S., XAVIER, H.S., NAVARRO, D.M.A.F., COELHO, L.C.B.B., PAIVA, P.M.G., **Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti***. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 79, 135-152, 2012.

PONTUAL, E. V.; ALBUQUERQUE, L. P. ; ROCHA-FILHO, C. A. A. ; COELHO, L. C. B. B. ; NAPOLEÃO, T. H. ; PAIVA, P. M. G. . ***Moringa oleifera* flower extract interferes with nutrition of *Sitophilus zeamais* (maize weevil)**. In: XLIII Annual Meeting of the Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society (SBBq), 2014, Foz do Iguaçu. XLIII Annual Meeting of the Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society (SBBq), p. J-40, 2014.

OKUDA, T.B.; NISHIJIMA, A.U.W.; OKADA, M. **Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution**. Faculty of Engineering, Hiroshima University1-4-1 Kagamiyama, 2000.

SÁNCHEZ-MACHADO DL.; LÓPEZ-CERVANTES J.; VÁZQUEZ NJR.; **High-performance liquid chromatography method to measure α and γ -tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera***. J Chromatogr A 1105:111–114, 2016.

THULER, R.T.; *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae): **estratégias para o manejo integrado**. 2006. 83f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Unesp, Jaboticabal, 2006.

EXTRATO DE FOLHAS DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS REDUZ A ECLODIBILIDADE DOS OVOS DA TRAÇA-DAS-BRÁSSICAS (PLUTELLA XYLOSTELLA)

Giovanna Moraes da Silva¹, Camila Azevedo Ferreira¹, Erasmo Guilherme Santos Neto¹, Pedro Ricardo da Costa Silva¹, Welton Aaron Almeida^{1,2}, Emmanuel Viana Pontual¹

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife/PE. ²Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE.
gih-moraes@hotmail.com

Resumo

Plutella xylostella (traça-das-brássicas) é a principal praga do cultivo das couves no mundo. *Schinus terebinthifolius* (Aroeira-vermelha) tem importância na medicina, culinária e economia. Este estudo descreve o efeito do extrato de folhas de *S. terebinthifolius* sobre a eclodibilidade de ovos de *P. xylostella*. Folhas (10 g) secas foram homogeneizadas com NaCl 0,15 M (100 mL). Em seguida, discos de folhas de couve contendo 10 ovos de *P. xylostella* foram imersos no extrato (1,5%) e colocados em placas de Petri. O ensaio foi acompanhado diariamente até 100% de eclosão dos ovos no grupo controle. Os resultados indicaram que o extrato de folhas (1,5% e 0,75%, m/v) reduziu a eclosão dos ovos. Em conclusão, o extrato de folhas de *S. terebinthifolius* representa uma alternativa interessante para proteção das brássicas, por reduzir a eclosão dos ovos de *P. xylostella*.

Palavras-chave: aroeira vermelha, *Brassica oleracea*, praga agrícola, embriocida.

1 Introdução

Plutella xylostella (traça das crucíferas, família Plutellidae) é espécie de um microlepidóptero de coloração parda considerada cosmopolita por ocorrer em diversas regiões produtivas do globo. É considerada a principal praga do cultivo das Brássicas, incluindo couve, couve-flor, couve-brócolis e repolho (ORTIZ *et.al.* 1999; CASTELO BRANCO & VILAS BOAS, 1997).

P. xylostella é um inseto de ciclo curto que apresenta quatro instares larvais, onde no quarto inicia a confecção do casulo. Os ovos são elípticos, aplanados, com relevos ondulados. A larva é inicialmente esbranquiçada e depois adquire coloração verde, as pupas podem chegar até 1 cm de comprimento. A pupa fica dentro de um tênue casulo de seda branco.

A oviposição pelas fêmeas de *P. xylostella* ocorre na face inferior das folhas. Após a eclosão, as lagartas de primeiro ínstar “minam” as folhas, alimentando-se do

parênquima por dois ou três dias. Após esse período, passam a alimentar-se da epiderme, perfurando as folhas e danificando-as ao ponto de não servirem para serem comercializadas (IMENES et al., 2002). Após completar o quarto instar larval, empupam no interior de um pequeno casulo de seda produzido pela lagarta, na face inferior das folhas. Os ataques severos por *P. xylostella* principalmente durante os períodos mais secos do ano podem ocasionar perdas totais nos campos de produção (ORTIZ et al., 1999; CASTELO BRANCO & VILAS BOAS, 1997).

Entre os métodos de controle de populações de *P. xylostella* encontram-se a rotação de culturas, armadilhas luminosas, reguladores de crescimento de insetos, cultivares resistentes, feromônios e o controle biológico incluindo inimigos naturais e parasitoides (MONNERAT & BORDAT 1998, CASTELO BRANCO.1999, CASTELO BRANCO & MEDEIROS 2001, MONNERAT et al., 2002; IMENES et al., 2002).

Schinus terebinthifolius (Aroeira-vermelha) é pertencente à família Anacardiaceae e apresenta uma enorme variação de nomes populares: Aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, aroeira-da-praia, aroeira-mansa. É uma árvore de porte médio podendo alcançar entre 5 e 10 m de altura. É dióica, de folhas compostas, imparipinadas e aromáticas. Apresenta flores brancas muito pequenas em panículas, fruto tipo drupa, redondo, vermelho-brilhante, aromático e adocicado. Reproduz-se por sementes ou por estacas (LORENZI et al., 2002). Essa planta possui distribuição tropical e subtropical, é originária da América do Sul, nativa do Brasil, Paraguai, Uruguai e leste da Argentina. É largamente distribuída por todo território brasileiro (SILVA-LUZ; PIRANI, 2012).

S. terebinthifolius tem muitas utilidades descritas na literatura, sendo usada na medicina popular por apresentar atividades antimicrobiana, antitérmica, anti-inflamatória, analgésica, depurativa e antiulcerogênica. Além disso, o fruto, conhecido como pimenta rosa, é usado como condimento e sua casca pode ser utilizada na produção de tintas para tecidos (BAGGIO, 1988). Foi relatado também que o extrato salino de folhas de *S. terebinthifolius* induziu a mortalidade de larvas de *A. aegypti*, causando forte desordem no seu epitélio intestinal (Procópio et al., 2015). A utilização de preparações de *S. terebinthifolius* pela população e os relatos prévios de seu potencial inseticida estimularam a avaliação do seu efeito sobre *P. xylostella*.

2 Material e Métodos

Obtenção do extrato de folhas

As folhas de *S. terebinthifolius* foram coletadas em Recife, Pernambuco e colocadas para secar a 28°C durante 4 dias. Após trituras das folhas, a farinha obtida (10 g) foi homogeneizada com solução de NaCl 0,15 M (100 mL) durante 16 h a 28°C, em agitador magnético. Após a filtração e centrifugação (3.000 g, 15 min) dessa mistura, o sobrenadante foi coletado e dialisado (4 h) contra água destilada, correspondendo ao extrato de folhas. Em seguida, o extrato foi liofilizado e ressuscitado em NaCl 0,15 M para obter uma solução estoque de concentração 1.5% (m/v).

Efeitos do extrato de folhas na eclodibilidade dos ovos de *P. xylostella*

Os ovos de *P. xylostella* foram obtidos a partir de uma cultura mantida em folhas de couve, em condições controladas, no Laboratório de Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Para avaliação do efeito na eclodibilidade dos ovos, foi utilizado o método de imersão da folha conforme descrito por Tabashnik e Cushing (1987). Discos de folha de couve contendo 10 ovos de *P. xylostella* com idade menor do que 10 h foram imersos no extrato de folhas a 1,5% e 0,75% (m/v) ou em NaCl 0,15 M (grupo controle). Após a imersão, os discos de folha foram secos ao ar ($28 \pm 5^\circ\text{C}$) por 40 min. Em seguida, os discos de folha tratados foram colocados em placas de Petri (8 cm de diâmetro, 1,5 cm de profundidade). A taxa de eclosão dos ovos foi registrada diariamente até a completa eclosão dos ovos do grupo controle. Cada tratamento foi realizado em quatro replicatas.

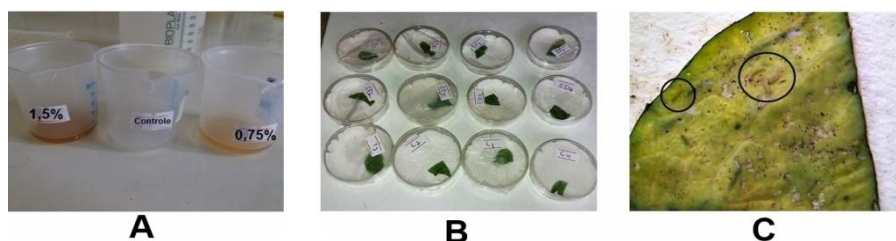


Figura 1. Ensaio para avaliação do efeito do extrato de folhas de *S. terebinthifolius* na eclodibilidade dos ovos de *P. xylostella*. (A) Discos de folhas de couves contendo 10 ovos foram imersos no extrato de folhas de *Schinus* a 1,5% e 0,75% (m/v) ou em NaCl 0,15 M (controle). (B) Após tratadas, os discos foram colocados em 12 placas de petri e deixados secar durante 40 min a $28 \pm 5^\circ\text{C}$. (C) A taxa de eclodibilidade dos ovos foi registrada diariamente utilizando um microscópio até que todos os ovos do controle tivessem eclodido. O ensaio durou 96 horas.

3 Resultados e Discussão

A emergência de populações de *P. xylostella* resistentes aos agrotóxicos atualmente utilizados e a alta toxicidade desses compostos para os organismos não alvo, inclusive o homem, estimularam as avaliações descritas neste relatório. Durante o ensaio para determinar o efeito do extrato de folhas de *S. Terebinthifolius* na eclodibilidade dos ovos de *P. xylostella*, foi possível observar a inibição da eclosão já após 48h da exposição. Esse efeito se manteve durante as 96 h do ensaio, alcançando uma taxa de eclosão de 50% para os grupos tratados com o extrato de folhas e quase 100% para o grupo controle (Figura 2). Este resultado sugere que o extrato de folhas de *S. Terebinthifolius* pode estar afetando a viabilidade dos embriões de *P. xylostella*.

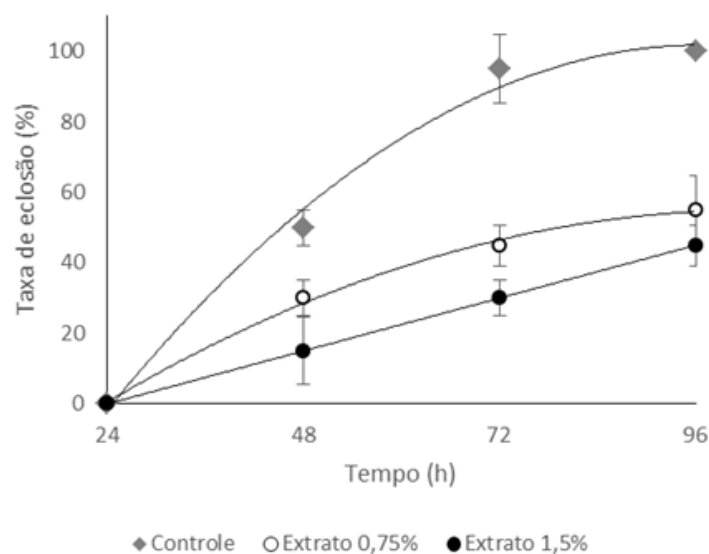


Figura 2. Efeito do extrato de folhas de *S. Terebinthifolius* na eclodibilidade dos ovos de *P. xylostella*.

Similar aos nossos resultados, Manfré 156L 156L. (2006) demonstraram que extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azederache* *Aspidospermum pyrifolium* foram tóxicos para ovos de *P. xylostella*, sendo essa resposta dose dependente. Os extratos de casca de *A. Piryfolium*, fruto de *M. Azedarach* e amêndoa de *A. Indica* também exerceram ação ovicida sobre *P. xylostella*.

Esses dados permitem concluir que o extrato de folhas de *S. Terebinthifolius* representa uma alternativa interessante para proteção das brássicas, por reduzir a eclosão dos ovos de *P. xylostella*.

4 Agradecimentos e apoios

Giovanna M. Silva agradece à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela Bolsa de Treinamento de Técnico e os demais atores agradecem à FACEPE, à CAPES e ao CNPQ pelo financiamento à pesquisa.

5 Referências

- BAGGIO A. J. **Aroeira como potencial para usos múltiplos na propriedade rural.** Boletim de Pesquisa Florestal, Curitiba, n. 17, p. 25-32, 1988.
- CASTELO BRANCO, M. **Avaliação da eficiência de formulações de *Bacillus thuringiensis* para o controle de traça-das-crucíferas em repolho no Distrito Federal.** Horticultura Brasileira, Brasília, v. 17, n. 3, p. 237-240, 1999.
- CASTELO BRANCO, M. et al. **Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso.** Horticultura Brasileira, Brasília, v. 19, n. 1, p. 60-63, 2001.

- CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. **Insecticideresistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil.** Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Londrina-PR, v. 26, n. 1, p. 75-79, 1997.
- CASTELO BRANCO, M.; VILLAS BÔAS, G. L. **Traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* – Artrópodes de importância econômica.** Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças, Brasília, n. 4, p. 1-3, 1997.
- IMENES, S. D. L. et al. **Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.). (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho.** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 69, n. 1, p.81-84, 2002.
- LORENZI, H.; ABREU MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo, 2002.
- MIRANDA ORTIZ F. et al. **Cría de *Plutella xylostella* para multiplicación de sus parasitoides.** Manejo Integrado de Plagas, v. 51, p.78-81, 1999.
- MONNERAT, R.G.; BORDAT, D. **Influence of HD-1 *Bacillus thuringiensis* spp. *kurstaki* on the developmental stages of *Diadegma* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasitoid of diamondback moth (*Plutella xylostella*) (Lepidoptera: Yponomeutidae).** Journal of Applied Entomology, v.122, p.49-51, 1998.
- SILVA-LUZ, C. L.; PIRANI, J. R. 2012. **Anacardiaceae.** In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**, 2012.
- TORRES, A. L. et al. **Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidospermum pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*.** Bragantia, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006.

EXTRATO DE *OPUNTIA FÍCUS-INDICA* INTERFERE NA SOBREVIVÊNCIA E NA PERMEABILIDADE DA MATRIZ PERITRÓFICA DE LARVAS *AEDES AEGYPTI*

Vila-Nova, Isabella C.¹, Nascimento, Jéssica S.², Navarro, Daniela M. A.
F.², P.M.G. Paiva³, T.H. Napoleão³, E.V. Pontual¹

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE. ²Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE. ³Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE.

bella_coimbra@hotmail.com

Resumo

Cladódios de *Opuntia ficus-indica* expressam uma lectina cuja toxicidade para cupins *Nasutitermes corniger* foi relatada. Aqui reportamos o efeito do extrato de cladódios na sobrevivência e permeabilidade da matriz peritrófica de larvas de *Aedes aegypti*. Cladódios foram secos ao ar (25° C) e triturados, sendo a farinha homogeneizada com NaCl 0,15 M. O extrato resultante apresentou concentração de 7,2% (m/v) e aglutinou eritrócitos de coelho com atividade específica de 178. Larvas de *A. aegypti* foram sensíveis ao tratamento com o extrato de cladódios a 4,3% (m/v), alcançando uma taxa de mortalidade de 40±14%. As larvas foram então alimentadas com carvão ativado e expostas ao extrato. Os resultados revelaram um aumento na permeabilidade da matriz peritrófica, uma vez que o carvão extravazou para além dos seus limites. Em conclusão, o extrato de cladódios de *O. ficus-indica* é tóxico para larvas de *A. aegypti* por interferir na permeabilidade da sua matriz peritrófica.

Palavras chave: larvicida natural, palma forrageira, lectina, mosquito da dengue.

1 Introdução

O Ministério da Saúde do Brasil declarou estado de emergência de saúde pública em decorrência dos altos índices de casos de microcefalia, os quais têm sido associados ao vírus zika (BRASIL, 2016). Nesse contexto, o controle de populações do mosquito *Aedes aegypti* tem se tornado a principal medida de prevenção da doença. Além de vetor do vírus zika, o *A. aegypti* é vetor da dengue, da chicungunya e da reemergente febre amarela.

Com o propósito de eliminar criadouros do *A. aegypti*, inseticidas sintéticos têm sido utilizados. Essa prática se iniciou em 1986, quando houve um dos primeiros surtos de dengue nas Américas (WHO, 2009). Contudo, nem sempre este método é eficaz, uma vez que tem resultado na seleção de populações de mosquitos resistentes. Nesse sentido,

plantas têm sido estudadas como fonte de compostos bioativos com efeitos tóxicos sobre os insetos, incluindo as lectinas (GRZYBOWSKI et al., 2012, NAPOLEÃO et al., 2012).

Lectinas são proteínas capazes de ligar carboidratos e aglutinar células de maneira reversível e específica. São encontradas em vários organismos, como plantas, vírus, bactérias, fungos, invertebrados (AGRA-NETO et al., 2014) e vertebrados (MAKKER et al., 2002). As lectinas possuem várias aplicações biotecnológicas, incluindo o efeito inseticida que pode estar relacionado à capacidade de interagir com resíduos de N-acetilglicosamina ou com proteínas glicosiladas da matriz peritrófica ao nível do intestino dos insetos, alterando suas propriedades e agredindo a sua integridade (PAIVA et al., 2011).

Cladódios de *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae), conhecida popularmente como palma forrageira, são utilizados na medicina popular por apresentar efeito antiulcerogênico, cicatrizante e diurético (GALATI et al., 2002, TROMBETTA et al., 2006). Essa planta também representa uma importante fonte alternativa de alimento para animais (TEGEGNE et al., 2007).

Relatos prévios indicaram que os cladódios de *O. ficus-indica* expressam uma lectina que apresenta atividade inseticida contra cupins da espécie *Nasutitermes corniger* (PAIVA et al., 2011). Aqui nós relatamos os resultados da investigação do extrato de cladódios de *O. ficus-indica* quanto à atividade larvicida contra *A. aegypti* e efeito na permeabilidade da matriz peritrófica de larvas.

2 Material e Métodos

Obtenção do extrato de *O. ficus-indica*

Cladódios de *O. ficus-indica* foram coletados em Pau Amarelo (Paulista/PE), secos ao ar (25° C) e triturados. A farinha obtida (10 g) foi homogeneizada (16 h, 4° C) em NaCl 0,15 M (50 ml). Após filtração e centrifugação (4.000 g, 15 min), o sobrenadante correspondeu ao extrato de cladódios. O extrato foi avaliado quanto à atividade hemaglutinante em placas de microtitulação, de acordo com Napoleão et al. (2012), utilizando-se solução de eritrócitos de coelho glutarizados (BING et al., 1967). A atividade hemaglutinante foi definida como o inverso da maior diluição do extrato de cladódios capaz de promover hemaglutinação. A atividade hemaglutinante específica correspondeu à razão entre o título e a concentração da proteína (mg/mL). O Comitê de Ética no Uso de Animais da UFPE aprovou o método de coleta dos eritrócitos (processo 23076.033782/2015-70).

Ensaios larvicida

A atividade larvicida do extrato de cladódios foi investigada utilizando-se uma adaptação do método recomendado pela Organização Mundial de Saúde (1981) descrita por Navarro et al. (2003). Vinte larvas de *A. aegypti* no quarto instar foram imersas em 20 mL do extrato de cladódios (0,72-4,3%, m/v) ou de NaCl 0,15 M (solução controle). Os ensaios foram conduzidos no escuro, à temperatura entre 25–27°C durante 24 h. As larvas foram consideradas mortas quando não foram capazes de responder a estímulos ou quando não realizaram movimentos em direção à superfície da solução. Três ensaios independentes foram realizados em triplicata.

Efeito na permeabilidade da matriz peritrófica

O efeito do extrato de cladódios na matriz peritrófica das larvas foi avaliado de acordo com EDWARDS & JACOBS-LORENA (2000) para indicar um possível mecanismo de ação da atividade inseticida. Para isso, larvas previamente tratadas com o extrato de cladódios na concentração de 4,32% e alimentadas com carvão ativado (0,01%) durante 24 h foram dissecadas e os intestinos médios removidos cuidadosamente com o auxílio de uma agulha. Em seguida os intestinos foram colocados em tampão fosfato de sódio (0,1 M pH 7,0 contendo NaCl 0,15) e imediatamente fotografados utilizando um estereomicroscópio com aumento de 6,8 x. O grupo controle correspondeu a larvas não tratadas e alimentadas com carvão ativado.

3 Resultados e Discussão

Este trabalho foi estimulado pela atual importância do mosquito *A. aegypti* como vetor de doenças endêmicas no Brasil e no mundo. A escolha dos cladódios de *O. ficus-indica* como material de partida foi baseada nos prévios relatos de atividade inseticida para esta planta. O extrato de cladódios de *O. ficus-indica* foi obtido com a concentração de 7,2% (m/v) e o ensaio de hemaglutinação revelou uma atividade específica de 178, sugerindo a presença de lectinas no extrato e confirmando os resultados publicados por (SANTANA et al, 2008). O extrato de cladódios causou mortalidade das larvas de *A. aegypti* após 48 h (Tabela 1).

Extrato de cladódio (% m/v)	Taxa de mortalidade de L4 (%)
0	0 ± 0^a
0,72	25 ± 0^b
2,8	$37,5 \pm 3,5^c$
4,3	40 ± 14^c

Tabela 1. Efeito do extrato de cladódios de *O. ficus-indica* na sobrevivência de larvas de *A. aegypti* no quarto instar. L4: larvas de *A. aegypti* no quarto instar. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os valores, os quais foram obtidos utilizando o Teste T de Student e considerando como significativos valores de $p < 0,05$.

A matriz peritrófica é uma estrutura anatômica em forma de filme, composta de proteínas, proteoglicanos e quitina, que reveste todo o intestino médio dos insetos, impedindo o contato do conteúdo do lúmen intestinal com as células do epitélio digestivo. A matriz peritrófica é também capaz de limitar a entrada de possíveis patógenos, uma vez que o tubo digestivo é a rota mais comum de infecção (HEGEDUS et al., 2009; NAPOLEÃO et al., 2012). Nesse sentido, para sugerir um possível mecanismo para a atividade larvicida do extrato de cladódios, seu efeito sobre a matriz peritrófica das larvas foi investigado. Os resultados revelaram que o extrato de

cladódios aumentou a permeabilidade da matriz peritrófica, uma vez que houve extravasamento do carvão ativado para fora dos limites do intestino (Figura 1).

A alteração da permeabilidade da matriz peritrófica pelo tratamento com o extrato de cladódios pode estar relacionada com a presença de lectina nessa preparação, devido à sua capacidade de interagir com resíduos de N-acetil-glicosamina presentes na quitina que compõe essa membrana (NAPOLEÃO et al., 2011).



Figura 1: Efeito do extrato de cladódios de *O. ficus-indica* sobre a membrana peritrófica de larvas de *A. aegypti* no quarto instar. (A) Larva alimentada com solução controle (NaCl 0,15 M) e carvão ativado (0,01%) (B) Intestino dissecado da larva alimentada com solução controle e carvão ativado. (C) Larva alimentada com o extrato de cladódios (4,32 %) e carvão ativado. (D) Intestino dissecado da larva alimentada com o extrato de cladódios e carvão ativado. As imagens foram visualizadas em microscópio estereoscópico com aumento de 6,8 x.

Em conclusão, os dados aqui apresentados indicam que o extrato de cladódios de *O. ficus-indica* é tóxico para larvas de *A. aegypti* por interferir na permeabilidade da matriz peritrófica. Esses efeitos podem estar relacionados à presença de lectinas no extrato.

4 Agradecimentos e apoios

Isabella C. Vila Nova agradece à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela Bolsa de Iniciação Científica e os demais atores agradecem à FACEPE, à CAPES e ao CNPQ pelo financiamento à pesquisa.

5 Referências

AGRA-NETO, A.C. et al., 2014 Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. **Parasitol Research**, 113, 175-184.

BING, D. H.; Weyand, J. G. M.; Stavinsky, A. B. Hemagglutination with aldehyde fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies. **Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 124, p. 1166-1170, 1967.

BRASIL. Ministério da Saúde Sistema de Informação sobre Doenças de Declaração Obrigatória. . **Incidência de casos de dengue e número de óbitos no Brasil de 1990 a 2015**, 2016. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dados-dengue>>. Acesso em 10 Dez. 2016.

EDWARDS, M.J., JACOBS-LORENA, M., 2000. Permeability and disruption of the peritrophic matrix and caecal membrane from *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* mosquito larvae. **Journal of Insect Physiology**, 46, 1313–1320.

GALATI, E.M., Monforte, M.T., Tripodo, M.N., d'Aquino, A. and Mondello, M.R. 2001. Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. **Journal of Ethnopharmacology**, 76, 1-9.

GRZYBOWSKI, A. et al. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**: The combined action of phytolavicides for the control of dengue fever vector, *Aedes aegypti* , 22(3): 549-557, May/June. 2012.

MAKKER, N.P.; Conlin, J.; Hogan, V.; RAZ, A. Carbohydrate-binding proteins in cancer, and their ligands as therapeutic agents. **Trends in Molecular medicine**. 8(4): 187-192, 2002.

NAPOLEÃO, T.H., Pontual, E.V., Lima, T.A., Santos, N.D.L., Sá, R.A., Coelho, L.C.B.B., Navarro, D.M.A.F., Paiva, P.M.G., 2012 Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. **Parasitology Research**, 110, 609-616.

WHO: World Health Organization 2009. **Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control**. WHO/HTM/NTD/DEN/2009.

PAIVA, P. M. G., Santana, G. M. S., Souza, I. F. A. C., Albuquerque, L. P., Agra-Neto, A. C., Albuquerque, A. C., Luz, L. A., Napoleão, T. H., Coelho, L. C. B. B. Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. **International Biodegradation and Biodeterioration**. v. 65, p. 982-989, 2011b.

TEGEGNE, F., Kijora, C. and Peters, K.J. Study on the optimal level of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) supplementation to sheep and its contribution as source of water. **Small Ruminant Research**. 72, 157-164. 2007.

HIPERPARATIREOIDISMO SECUNDÁRIO RENAL CANINO – REVISÃO DE LITERATURA

Thyago Gonzaga Batista de Lira¹; Larissa Dias Gonçalves da Silva¹; Kelvin Kenn de Freitas Pereira¹; Ana Cristina Costa de Sousa¹; Jessica Lais de Oliveira Lima¹; Elayne Cristine da Silva²

1Discentes de Medicina Veterinária, Centro Universitário Maurício de Nassau– UNINASSAU

2Docente de Medicina Veterinária, Centro Universitário Maurício de Nassau - UNINASSAU

thyago.lira@icloud.com

Resumo

O hiperparatireoidismo secundário renal é uma disfunção da glândula paratireoide, associada a insuficiência renal crônica. A ciência veterinária tem apresentado grande evolução, resultando em maior longevidade dos animais domésticos, e as disfunções apenas evidenciadas na fase idosa, agora podem ser vistas com maior frequência. Através deste artigo, será abordada uma análise bibliográfica a respeito das características do hiperparatireoidismo secundário renal, os fatores contribuintes para a doença renal, bem como formas de diagnóstico e tratamento.

Palavras chave: hipocalcemia, fisiopatologia, PTH, vitamina D, cão

1 Introdução

Como resultado do progresso do ensino veterinário muitos animais domésticos agora chegam a senilidade e, com isso, problemas que anteriormente não eram rotineiros, passaram a ser cada vez mais frequentes na rotina clínica veterinária. Dentre estas disfunções tem-se o hiperparatireoidismo secundário renal. O hiperparatireoidismo é designado pela hiperfunção das glândulas paratireoides, ocasionando a produção exacerbada do hormônio da paratireoide (PTH) ou paratormônio. Ela pode ser classificada como primária ou secundária, sendo caracterizado o hiperparatireoidismo primário quando a patologia é de fator intrínseco (na própria glândula), e hiperparatireoidismo secundário, quando por fatores extrínsecos, como a hipertensão, desequilíbrio metabólico, insuficiência renal crônica. Sendo esta última, a mais frequente das causas nos caninos. Devido ao grande número de pacientes renais crônicos na clínica de pequenos animais; objetiva-se com este trabalho, abordar a fisiologia, sinais clínicos, diagnóstico e tratamento do hiperparatireoidismo em cães, decorrente da insuficiência renal.

2 Paratireoide

A paratireoide é composta por pequenas glândulas de estruturas epiteliais pareadas bilateralmente, podendo estar localizadas tanto no interior da glândula tireoide como próximo à sua cápsula. Tendo seu desenvolvimento a partir do epitélio da terceira e quarta bolsa faríngea, as glândulas paratireoides internas são nomeadas de paratireoides IV, e as glândulas externas recebem o nome de paratireoide III. As características anatômicas dessa glândula diferem de acordo com a espécie. No cão as paratireoides internas situam-se internamente integradas no segmento médio de cada lobo, e as externas, próximas ao polo cranial ou à metade cranial da glândula tireoide (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

Em relação à sua função endócrina, essas glândulas produzem o paratormônio (PTH), que tem como principal função, o controle da concentração sérica de cálcio e fósforo, e como consequência, atua na regulação do metabolismo no interior dos ossos, absorção do trato gastrointestinal e a excreção na urina (BRACCO et al, 2003).

3 PTH e Vitamina D

Existem vários fatores que controlam a excreção do PTH, entre eles estão o aumento ou diminuição na concentração sérica de cálcio no sangue, epinefrina, magnésio e o sono (KLEIN, 2014). Tendo uma meia vida de aproximadamente dois minutos, sua metabolização em porcentagem, seria de 70% no fígado, 20% nos rins e em menor quantidade nos outros tecidos, como o tecido ósseo (LANNA et al, 2003).

No organismo, o paratormônio age de duas formas, direta e indiretamente. Sendo a sua ação direta nos rins e ossos, e a indireta no trato gastrointestinal. Sua função é elevar os níveis de cálcio e reduzir os de fósforo. Nos ossos, este hormônio promove uma ação direta, promovendo a transferência de cálcio através de uma membrana formada pelos osteoblastos e osteócitos. Este evento ocorre sem que a concentração de fósforo seja afetada (DUARTE, 2002). Ainda em sua ação direta, o PTH age nos túbulos contorcidos distais, localizados nos rins, onde desempenha a função de aumentar a absorção do cálcio e reduzir a reabsorção do fósforo pelos rins, estimulando assim a fosfatúria, sua eliminação na urina (CAMPOS; PINHATI, 2013).

Entre suas ações está ação indireta, onde participa na ativação da vitamina D pelos rins. Com isso, o PTH colabora para a absorção do cálcio, uma vez que a vitamina D possui a função de ajudar na absorção do mesmo pelo intestino (BUENO, 2008). Mesmo dispondo de uma via de formação endógena situada na pele, a vitamina D tem grande parte da sua manutenção feita de forma exógena, tendo em vista a necessidade do organismo. Inicialmente de forma inativa a vitamina D será hidroxilada pelo fígado na posição C-25, após este estágio a molécula irá passar por hidroxilação nos rins na posição C-1, transformando-se em sua forma ativa (1,25-di-hidroxicolecalciferol), que desempenhará sua função no intestino e em outros órgãos (PREMAOR, 2006).

A vitamina D atuará nas células endoteliais do intestino, induzindo a absorção de cálcio no duodeno e no jejuno. No duodeno, essa absorção será regulada pelo estímulo de proteínas trpv5 e trpv6, responsáveis pela captação de cálcio pelos enterócitos, mediante estímulo da proteína calbindina, que realizará o transporte intracelular de cálcio e e extrusão do cálcio para o fluido extracelular através dos canais de membrana ATP dependente. No jejuno, esse hormônio estimula a expressão de

paracelinas que formará canais nos locais em que o cálcio for transferido passivamente por gradiente de concentração(CASTRO, 2011).

4 Hiperparatireoidismo secundário renal e a doença renal crônica

Identificado por desencadear um significativo aumento da concentração do paratormônio (PTH) em sua forma biologicamente ativa, o hiperparatireoidismo secundário renal (HPTSR) se configura como uma patologia de complicação comum à insuficiência renal, atingindo tanto ao ser humano quanto aos cães (QUEIROZ, 2015)

O HPTSR consiste em uma desordem metabólica decorrente da produção exacerbada do PTH pela paratireoide, ocasionando o elevado nível do mesmo no organismo (LACATIVA, 2003)

A patologia está intimamente ligada à insuficiência renal crônica(IRC), que tem como características o notável quadro de hipocalcemia, uremia, falência renal e lesões na maioria das vezes irreversíveis. Em grande parte dos casos a causa da IRC é desconhecida, mas os fatores mais comuns que ocasionam esta patologia são infecções ou inflamações nos rins, exposição a tóxicos, idade, doenças congênitas e hereditárias, amiloidose (causadas por depósitos anormais de proteína nos rins) (CLINE, 2016).

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada por submeter mudanças estruturais e funcionais adaptativas dos néfrons, na tentativa do organismo manter-se em homeostase, quanto à regulação do volume e da composição do fluido corporal extracelular. Ao passar do tempo, essas mudanças adaptativas acabam tornando-se excessivas e na maioria dos casos, ineficientes, causando danos ainda maiores aos néfrons (SHIMIZU, 2005)

Essa correlação entre as patologias ocorre porque a DRC há uma alteração no balanço de fósforo resultante da perda dos néfrons, desta forma ocorre uma redução nas taxas de excreção de fósforo, ocasionando a hiperfosfatemia (BASTOS et al, 2010). A retenção de fósforo tem também como consequência a inibição indireta da produção da forma ativa da vitamina D em razão à coibição da enzima 1- α -hidroxilase renal, que tem como função a conversão da vitamina D em sua forma ativa. Por efeito de diminuição da vitamina D ativa, ocorre uma baixa na absorção intestinal e reabsorção óssea de cálcio, acarretando o desenvolvimento de episódios de hipocalcemia constantes (SAMPAIO et al, 2008). Contudo, a perda de massa renal determina queda dos níveis circulantes da forma ativa da vitamina D e uma drástica redução na absorção intestinal de cálcio (PORTO, 2016) A hipocalcemia leva ao estabelecimento de um quadro de HPTSR, que mantém o cálcio plasmático em nível normal ou reduzido devido a uma mobilização das reservas ósseas e de um negativo balanço dos níveis de cálcio, ocasionando uma descalcificação óssea, que se torna algo progressivo, uma vez que o PTH irá retirar cálcio do reservatório ósseo que deveria provir da absorção intestinal (PORTO, 2016).

Dentre os sinais clínicos mais apresentados pelos pacientes acometidos pelo HPTSR, além da desmineralização óssea, pode ocorrer diminuição na hematopoese, lesão de músculo cardíaco, osteodistrofia, calcificação de tecidos moles, lesões ósseas, retardo no crescimento e dor. Os dentes móveis e a mandíbula flexível (mandíbula de

borracha) também podem ser observados. Em casos mais avançados da patologia, pode ocorrer ainda hiperplasia e metaplasia da paratireoide tornando-se autônoma e secretando o PTH mesmo em hipercalcemia (CHAVIER, 2011).

O diagnóstico da HPTSR em pacientes com DRC é feito através de exames laboratoriais com marcadores de metabolismo ósseo, sendo também observada as dosagens de PTH, cálcio e fósforo (SMITH et al 2009). Sendo necessárias observações dos parâmetros normais de fósforo e cálcio, para que a terapêutica seja frequentemente ajustada, assim, mantendo as concentrações dentro dos limites definidos (MARTIN; GONZÁLES, 2007). Alterações radiológicas características, como a reabsorção óssea, também podem ser observadas (MAY, 2001).

O tratamento do hiperparatireoidismo secundário renal é baseado em uma dieta com restrição de fósforo e quelantes de fósforo, como o carbonato de cálcio e o hidróxido de alumínio junto ao alimento. Por outro lado, o uso de quelantes contendo cálcio deve ser administrado com cautela havendo o risco de hipercalcemia. Além disso, existem os quelantes sem alumínio ou cálcio que apresentam pouco ou nenhum efeito colateral, como o carbonato de lantano e o hidrocloreto de sevelamer. Entretanto, por possuírem custo elevado, são pouco utilizados em animais acometidos por tal patologia. Após o controle da hiperfosfatemia, a terapia com calcitriol em jejum pode ser iniciada (ROZA, 2014). O prognóstico é geralmente ruim, devido à nefropatia progressiva (MAY, 2001).

5 Agradecimentos e apoios

A Deus pela sabedoria a nós concedida, a Prof. Dra. Elayne Cristine pela orientação durante a elaboração do trabalho, a Dra. Lidiania Holanda pelo auxílio, aos nossos pais pelo apoio e a Uninassau.

6 Referências

- BASTOS, marcus gomes; BREGMAN, rachel; KIRSZTAJN, giannamastroianni. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. **RevAssocMed Bras.** v. 56, n. 2, p. 248-253. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ramb/v56n2/a28v56n2>> . Acessado em: 18/05/17
- BRACCO, Oswaldo Luis; KAYATH, Márcia Jeha; VIEIRA, José Gilberto H. Hormônio da paratireoide (1-34) no tratamento da osteoporose. **ArqBrasEndocrinolMetab**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 285-291. Jun 2003. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302003000300014&lng=en&nrm=iso>. Acessado em: 18/05/17
- BUENO, Aline L; CZEPIELEWSKI, Mauro A.. A importância do consumo dietético de cálcio e vitamina D no crescimento. **J. Pediatr. (Rio J.)**. Porto Alegre, v.84, n. 5, p. 386-394. Out 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572008000600003&lng=en&nrm=iso>. Acessado em: 18/05/17
- CAMPOS, Frederico Schulz; PINHATI, Fernanda Romanholi. The Control of Calcium and Hypocalcemia. **Cadernos UniFOA**. v.23, p. 77-85. Dez 2013.

Disponível em: <<http://web.unifoa.edu.br/cadernos/edicao/23/77-85.pdf>>. Acessado em: 18/05/17

CASTRO, Luiz Claudio Gonçalves de. The vitamin D endocrine system. **ArqBrasEndocrinolMetab**. São Paulo, v. 55, n. 8, p. 566-575. Nov 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302011000800010&lng=en&nrm=iso>. Acessado em: 18/05/17

CHAVIER, Carolina Mascarenhas. Aspectos nutricionais na doença renal crônica em cães. 2011, p. 18. Tese (Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/118659/chavier_cm_tcc_botfm_vz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acessado em: 18/05/17

CLINE, Martha G. Nutritional management of chronic kidney disease in cats & dogs. **Today'sveterinarypractice**. v. 6, n. 2, p. 58-66. Mar/Abr 2016. Disponível em: <http://todaysveterinarypractice.navc.com/wp-content/uploads/2016/05/2016-0304_ACVN-Nutrition.pdf>. Acessado em: 18/05/17

DUARTE, P. S.; DECKER, H. H.; ALDIGHERI, F. C.; BRANDÃO, C.; ALONSO, G.; VIEIRA, J. G. H. The relation between serum levels of calcium and PTH and the positivity of parathyroid scintigraphy with sestamibi - Analysis of 194 patients. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v. 49, p. 930-937. 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v49n6/27394.pdf>>. Acessado em: 18/05/17

KLEIN, Bradley G. **Cunningham Tratado de Fisiologia veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 327-328.

KÖNIG, Horst Erich; LIEBICH, Hans-Georg. **Anatomia dos Animais Domésticos, Texto e Atlas Colorido**. 6. ed. XXX: Artmed, 2016. p. 575-578.

LACATIVA, Paulo Gustavo S.; FILHO, Pedro José M. Patrício; GONÇALVES, Manuel D. Cruz; FARIAS, Maria Lucia F.. Indicações de Paratireoidectomia no Hiperparatireoidismo Secundário à Insuficiência Renal Crônica. **ArqBrasEndocrinolMetab**. v. 47, n. 6, p. 644-653. Dez 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v47n6/a05v47n6.pdf>>. Acessado em: 18/05/17

LANNA, C. M.; PAULA, F. J.; MONTENEGRO JR, R. M.; MOREIRA, A. C., FOSS, M. C. Parathyroidhormonesecretion in chronichumanendogenouslyhypercortisolism. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 35, p. 229-236. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjmb/v35n2/4374.pdf>>. Acessado em: 18/05/17

MARTIN, Kevin J.; GONZÁLEZ, Esther A.. Metabolic Bone Disease in Chronic Kidney Disease. **Journal of the American Society of Nephrolog**. v. 18, p. 875-885. 2007. Disponível em: <<http://jasn.asnjournals.org/content/18/3/875.full.pdf+html>>. Acessado em: 18/05/17

MAY, C. Osteopatias e Artropatias. In: DUNN, John K. **Tratado de Medicina de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca LTDA, 2001. p. 726

PORTO, Rafael A; TRUITE, Marília R; BUCHARLES, Sérgio Elias Gardana; HAUSER, Aline Borsato. Secondary hyperparathyroidism: a Chronic Kidney Disease

complication. **RBAC**. v. 48, n. 3, p. 182-188. 2016. Disponível em: <http://sbac.org.br/rbac/wp-content/uploads/2016/11/ARTIGO-1_RBAC-48-3-2016-ref.-161.pdf>. Acessado em: 18/05/17

PREMAOR, Melissa Orlandin; FURLANETTO, Tania Weber. Vitamin D deficiency in adults: to better understand a new presentation of an old disease. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 25-37. Feb 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302006000100005&lng=en&nrm=iso>. Acessado em: 18/05/17

QUEIROZ, Layla Livia de. Distúrbios endócrinos na doença renal crônica em cães. 2013, p. 3. Tese (Pós-graduação em ciência animal), Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Disponível em: <http://www.ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/2013_Layla_Livia_Seminario1.pdf>. Acessado em: 18/05/17

ROZA, Marcello Rodrigues da.; OLIVEIRA, André Lacerda de Abreu; NARDI, Andriago Barboza de; SILVA, Rodrigo Luis Morais da. Dia-a-dia Tópicos Seleccionados em Especialidades Veterinárias. 1. ed. Curitiba: Medvep, 2014. p. 327-328.

SAMPAIO, Elisa de Albuquerque; LUGON, Jocemir Ronaldo; BARRETO, Fellype de Carvalho. Pathophysiology of Secondary Hyperparathyroidism. **J Bras Nefrol**. v. 30, n. 1, p. 6-10. 2008. Disponível em: <<https://sbn.org.br/app/uploads/4-Elisa-301S1.pdf>>. Acessado em: 18/05/17

SHIMIZU, M.H.M. A N-acetilcisteína atenua a progressão da doença renal crônica. 2005, p. 105. Tese (Doutorado em medicina), Faculdade de Medicina Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-31102006-162853/pt-br.php>>. Acessado em: 18/05/17

SMITH, David H.; JOHNSON, Eric S.; THORP, Micah L.; YANG, Xiuhai. Adherence to K/DOQI Bone Metabolism Guidelines. **Journal of Renal Nutrition**. v. 19, n. 4, p. 334-342. 2009. Disponível em: <<http://documents.tips/download/link/adherence-to-kdoqi-bone-metabolism-guidelines>>. Acessado em: 18/05/17

IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO DO FLUIDO RUMINAL NA DETECÇÃO DE ALTERAÇÕES DO TRATO DIGESTÓRIO DOS RUMINANTES DOMÉSTICOS

Luiza Borba de Almeida Madruga, Caroline da Silva Leite, Isabela Gilena Lins dos Santos, Marcelo Weinstein Teixeira
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE
luizaalmeida95@hotmail.com

Resumo

A avaliação do fluido ruminal tem a função de verificar a possibilidade de distúrbios metabólicos subclínicos associados ao trato digestório, sendo possível avaliar, segundo parâmetros estabelecidos, a normalidade química e física da amostra, a qual refletirá, consequentemente, no estado do animal. Em ruminantes transtornos metabólicos e digestivos ocorrem com muita frequência, dentre eles estão a indigestão simples, alcalose ruminal, intoxicação por ureia e acidose ruminal aguda. Portanto, a análise do líquido ruminal pode auxiliar o clínico no diagnóstico do animal e, além disso, pode ser utilizado em terapia para o estabelecimento apropriado da flora ruminal, sendo realizada a transfaunação ruminal.

Palavras chave: fluido ruminal, parâmetros, trato digestório, distúrbios

1 Introdução

A análise do líquido ruminal pode avaliar a presença de distúrbios metabólicos subclínicos relacionados ao trato digestório. Neste exame é possível analisar a cor, viscosidade, odor, sedimentação, determinação do pH, determinação da atividade bacteriana e avaliação dos protozoários.

Os transtornos metabólicos envolvendo o rúmen podem ser inicialmente detectados através da análise do líquido ruminal, pois as mudanças são mais significativas no fluido do que propriamente no sangue, devido ao mecanismo de homeostase. Portanto, o diagnóstico devido exames laboratoriais simples do líquido ruminal é muito importante (GONZÁLES et al., 2000). Além disso, segundo RADOSTITS et al., 2002 “O exame do conteúdo ruminal costuma ser indispensável para ajudar a determinar o estado do ambiente do rúmen”

Além da análise do fluido ruminal ser um importante parâmetro de avaliação do rúmen do animal, os equipamentos e testes utilizados são muito mais simples e baratos do que aqueles utilizados comumente no estudo do sangue (GONZÁLES et al., 2000).

Dessa forma, faz-se fundamental a avaliação do fluido ruminal, uma vez que o mesmo é um método simples, barato e confiável, possibilitando o diagnóstico de doenças metabólicas

subclínicas. O objetivo desta revisão de literatura é esclarecer que pode o fluido ruminal e sua análise podem ser utilizado para detecção de alterações do trato digestivo dos ruminantes.

2 Revisão de literatura

2.1 Trato digestório dos ruminantes domésticos

Os poligástricos domésticos apresentam 4 cavidades gástricas, sendo 3 pré-gástricas compostas por rúmen, retículo e omaso e a outra é constituída pelo estômago verdadeiro ou abomaso. O ambiente ruminal precisa apresentar características específicas para seu bom funcionamento. Entre essas características encontra-se variando de um pH ligeiramente ácido até um pH ligeiramente básico, temperatura entre 38,5 e 40°C e ausência total ou quase total de oxigênio, sendo estas condições essenciais para a sobrevivência de bactérias e de protozoários que compõem o ambiente ruminal.

2.2 Fluido ruminal

No fluido ruminal analisa-se diversos aspectos como a cor, cheiro, consistência (viscosidade), sedimentação, determinação do pH, determinação da atividade redutiva bacteriana e avaliação dos protozoários.

A colheita do líquido ruminal se dá por meio da sonda esofagiana ou por fístula ruminal, onde esta última exige intervenção cirúrgica para sua instalação. Porém, segundo Oliveira et al. (1993), após a realização de vários métodos de colheita do líquido ruminal em bovinos, mostrou-se que a sonda esofagiana obteve resultados de boa digestibilidade in vitro e isso comprova que a sua utilização é mais aconselhável na coleta do líquido. Além disso, a sonda pode ser utilizada com grande número de animais e com mais repetições, sendo indicada sobre o comportamento de tratamentos (LAVEZZO et al., 1988).

Para a análise do fluido ruminal, deve-se colher no máximo 500mL para avaliação laboratorial, devendo-se ter cuidado com o tempo e temperatura adequada, até 8 horas após a colheita e com armazenamento de 20°C a 22°C, respectivamente. Porém, é ideal que se examine o líquido ruminal logo após a colheita, para que não haja alterações indesejáveis na amostra (LAVEZZO et al., 1988).

Segundo Radostits et al. (2002) "a cor depende até certo ponto do alimento ingerido pelo animal, será verde, verde oliva ou castanho esverdeado. Em bovinos a pasto ou que recebam feno de boa qualidade, a cor é verde escura. Quando a alimentação básica do animal é silagem ou palha (alimento seco) a cor é amarelo acastanhado. Na por grãos a cor é branca leitosa à acinzentada e nos casos de estase ruminal prolongada é esverdeada e enegrecida".

A consistência normal do líquido ruminal deve ter uma viscosidade leve. Se houver presença de excesso de espuma indica, muito provavelmente, o timpanismo espumoso.

O odor normal deve ser aromático, de modo que não seja repugnante, pois assim, estaria indicando putrefação protéica ou indício de formação excessiva de ácido láctico originado da sobrecarga de carboidratos ou grãos. Caso o odor seja inodoro indica inatividade do suco ruminal (OLIVEIRA et al., 1993).

O pH, por sua vez, segundo Gonzáles et al. (2000), está dentro dos parâmetros normais de 6,2 a 7,2 e varia de acordo com o tipo de alimentação do animal e com o intervalo entre a última refeição e a coleta da amostra do líquido. Deve-se avaliar o pH da amostra logo após sua obtenção com tira de variação ampla do pH. A partir do resultado do pH sabe-se o tipo de alimentação do animal, uma vez que pH de 8,0 a 10,0 indica mistura com a saliva ou putrefação protéica. Já um pH de 4,0 a 5,0 indica consumo imediato ou excessivo de carboidratos.

A sedimentação e flutuação são realizadas da seguinte forma: deixa-se a amostra em repouso e mede-se o tempo em que ocorre sedimentação e flutuação. Segundo Radostitset al. (2002) “O tempo normal esperado é de 4 a 8 minutos, modificações nesse tempo podem estar relacionadas à anormalidades como ausência de flutuação na acidose, ou na indigestão simples”

A intensidade de movimentos dos microrganismos, o tamanho e a densidade populacional dos mesmos são fatores que são observados na avaliação dos protozoários. A avaliação pode ser feita em um tubo de vidro de forma direta ou por análise no microscópio óptico com aumento de 100X (WOLHT et al., 1976).

E, por fim, para prova de determinação da atividade redutiva bacteriana em amostra com 10mL do líquido ruminal, deve-se adicionar 0,5mL de azul de metileno com solução de 0,03%. Avalia-se, então, o intervalo de tempo desde que colocou-se a amostra até a degradação do azul de metileno dentro da amostra, de forma que fique homogêneo. Usa-se então os parâmetros descritos por Radostitset al, (2002): microflora normal (3 a 6 minutos), indigestão simples (mais de 8 minutos), e acidose aguda (mais de 30 minutos).

Vale ressaltar que, segundo Wolht et al., (1976), as características da avaliação do líquido ruminal em bezerros difere-se um pouco, uma vez que o pH varia de 6,0 a 7,0, a coloração varia de cinza claro a escuro, não tem odor e sua consistência varia de farinácea até aquosa. Isso ocorre devido a ingestão do leite, logo nas primeiras semanas de vida. Com a mudança gradativa da alimentação (feno, concentrado e água) as características do líquido ruminal vão se assemelhando cada vez mais ao de um animal adulto.

2.3 Alterações do trato digestório dos ruminantes e a avaliação do fluido ruminal

Em ruminantes, especialmente em bovinos, transtornos metabólitos e digestivos ocorrem com muita frequência. As alterações metabólicas ocorrem geralmente de forma

subclínica, ou seja, sem apresentar sintomatologia, podendo apresentar uma diminuição de 10 a 30% da produção. Podem ser detectadas alterações bioquímicas em grande parte dos transtornos ruminais e metabólicos, sendo estas evidentes na avaliação do líquido ruminal, onde é possível apresentar o diagnóstico e realizar a prevenção antes mesmo do animal apresentar os sintomas (GONZÁLES et al., 2000).

Algumas alterações podem ser diagnosticadas ou corrigidas facilmente através da análise ou utilização do líquido ruminal, tais como: indigestão simples, alcalose ruminal, acidose ruminal aguda e intoxicação por ureia.

A indigestão simples é causada por uma deficiência do fornecimento de glicídios e proteínas facilmente fermentáveis, excesso de fibras de má qualidade, desequilíbrio entre macro e microelementos ou pela utilização de antibióticoterapia inibindo a microflora ruminal. Nesse quadro, há uma diminuição do número de bactérias e protozoários no líquido ruminal, sendo detectada na prova azul de metileno. Além disso, ocorre uma diminuição da formação de ácidos graxos voláteis no rúmen, levando a um leve aumento do pH ruminal (GONZÁLES et al., 2000).

A alcalose ruminal é advinda do desequilíbrio dietético, sendo caracterizada pelo aumento no consumo de substâncias nitrogenadas ou compostos alcalinizantes, o que eleva a concentração de NH_3 resultando em uma alcalose sistêmica devido ao aumento do pH ruminal. Os protozoários diminuem e ocorre diminuição do cálcio ionizável no sangue. Faz-se, então, uma terapia aonde se deve administrar o líquido ruminal de uma vaca sadia e aplicar no animal que apresenta o distúrbio metabólico juntamente com a alteração da dieta do animal. (GONZÁLES et al., 2000).

A acidose ruminal aguda acontece quando há uma alta ingestão de carboidratos, principalmente aqueles que são altamente digeríveis (solúveis). Com essa ingestão elevada, os componentes serão fermentados pelas bactérias ruminais, as quais irão promover uma fermentação até ácido láctico, onde ocorre uma diminuição do pH ruminal, levando a acidose ruminal e em seguida a acidose metabólica sistêmica, resultando na diminuição dos protozoários do rúmen (Maruta e Ortolani, 2002; Radostits et al., 2002).

A intoxicação por ureia ocorre quando há uma administração exagerada de ureia ou sais de amônia sem antes o animal ter se adaptado com a quantidade em questão. Portanto, vai haver uma acumulação de NH_3 e CO_2 por causa da hidrólise da ureia feita pelas bactérias ruminais. O excesso de NH_3 alcaliniza o meio ruminal. Para reversão do quadro pode-se utilizar também da terapia ruminal. (GONZÁLES et al., 2000).

A utilização do fluido ruminal pode ser utilizada na detecção de alterações metabólicas subclínicas, mas também pode-se usar para terapia ruminal, sendo o fluido obtido de um animal sadio para a reposição adequada de componentes do rúmen (transfusão ruminal).

3 Conclusão

A análise do fluido ruminal mostra-se fundamental, pois é possível analisar diversos parâmetros referentes ao animal, dentre eles, a sua alimentação e alterações do seu metabolismo. Pode-se, portanto, a partir da avaliação do líquido ruminal, melhorar o manejo e alimentação do ruminante, diagnosticar distúrbios metabólicos e realizar tratamentos, caso o animal necessite, visando o seu bem-estar e evitando prejuízos econômicos.

4 Agradecimentos e apoios

Agradeço a UFRPE pela oportunidade de aprendizado contínuo.

5 Referências

- GONZÁLES, F. H. D.; BORGES, J. B.; CECIM, M. (Eds.). **Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.
- LAVEZZO, O.E.N.M.; FARIA, V.P.; MATTOS, W.R.S. et al. Influência de métodos de coleta de fluido ruminal sobre os parâmetros de fermentação em bovinos alimentados com diferentes fontes de proteína. **Rev. Soc. Bras. Zootec.**, v.17, p.281-291, 1988.
- MARUTA, C.A.; ORTOLANI, E.L. Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal: II – acidose metabólica e metabolização do lactato-L. **Ciência Rural**. 2002. v.32, n.1, p. 61- 65.
- OLIVEIRA, M.D.S.; VIEIRA, P.F.; SOUZA, A. et al. Efeito de métodos de coleta de fluido ruminal sobre a digestibilidade "in vitro" de alguns nutrientes de ração para bovinos. **Rev. Soc. Bras. Zootec.**, v.22, p.794-800, 1993.
- RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.J.; HOUSTON, D.M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. 1 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 332–338, 2002.
- WOLHT, J.E.; CLARK, J.H.; BLAISDELL, F.S. Effect of sampling, time, and method of concentration of ammonia nitrogen in rumen fluid. **J. Dairy Sci.**, v.59, p.459-464, 1976.

IDENTIFICAÇÃO DE ADAPTAÇÕES OSTEOHISTOLÓGICAS APENDICULARES EM *ANAS PLATYRHYNCHOS*(ANSERIFORMES) E SUAS IMPLICAÇÕES BIOMECÂNICAS

**Lenita da Silva Barbosa, Alexsandro Pereira dos Santos de Andrade, Esaú
Victor de Araújo, Leomir dos Santos Campos, André Pukey Oliveira
Galvão, Juliana Manso Sayão**
Universidade Federal de Pernambuco
lenita97@live.com

Resumo

O tecido ósseo tem como função primordial a sustentação do esqueleto, apresentando inúmeras adaptações de acordo com sua posição e pressões sofridas pelos organismos para manutenção de seus hábitos de vida. Aqui apresentamos uma descrição osteohistológica de ossos apendiculares de *Anas platyrhynchos*, buscando compreender possíveis adaptações esqueléticas a suas funções biomecânicas. As análises foram realizadas mediante seções do fêmur e tíbia, confeccionadas pelo método de desgaste e observadas em microscopia óptica. Ambas as amostras apresentam padrão microestrutural semelhante, formadas por complexo ósseo fibrolamelar, osteons primários e canais vasculares simples. Contudo, no fêmur ocorrem canais circulares organizados sob o padrão laminar, cuja plasticidade vascular estaria relacionada com suas adaptações a um elemento assessorio imprescindível a sustentação do esqueleto em si e ao voo. Na tíbia, ocorre um arranjo vascular que potencializaria a resistência às tensões relacionadas com a compressão e as cargas de flexão, essenciais para caminhar ou mesmo alçar voo.

Palavras chave: *Anas platyrhynchos*, osteohistologia, biomecânica

1 Introdução

Anas platyrhynchos corresponde a uma espécie pertencente a ordem dos Anseriformes, sendo conhecida vulgarmente como pato real. São animais que podem ser encontrados em seu habitat natural vivendo em ambientes próximos a água doce ou salgada. Sua alimentação é composta essencialmente por folhagens, sementes, vermes, moluscos e pequenos invertebrados. Constituem um dos poucos indivíduos da natureza que andam, nadam e voam com razoável competência (VIEIRA, 2009). Sabe-se que o pato doméstico descende do pato selvagem da América meridional (DOMINGUES, 1968). Espécies selvagens como *Carina moschata*, *Anas platyrhynchos* e *Anas rubripes* possuem hábitos migratórios. Para esta função, desenvolveram adaptações tanto na morfologia corpórea como óssea, permitindo-lhes alçar longos vôos. O presente trabalho busca compreender as possíveis adaptações osteohistológicas apresentadas por *Anas platyrhynchos*, através de análises de sua histologia óssea. A osteohistologia é uma ferramenta que permite a dedução de aspectos biomecânicos, ecológicos e

biológicos, a partir da microestrutura do osso (SAYÃO, 2003). No entanto, apesar das análises osteohistológicas terem se iniciado há mais de 150 anos e serem bastante comuns na interpretação de espécies fósseis, ainda são poucas as caracterizações desta natureza em espécies viventes.

2 Material e Métodos

Neste trabalho foram realizadas análises osteohistológicas dos ossos de *Anas platyrhynchos*. O espécime é composto por fêmur e tíbia, e pertence ao acervo de anatomia e histologia comparada do BIONE - UFPE - CAV. Para preparação das lâminas delgadas, foi utilizado o protocolo de Lamm (2013), que propõe a retirada de amostras de osso de 0,5 cm de espessura e sua inclusão em resina (RESAPOL T-208 catalizada com BUTANOX M50-IBEX). Em seguida, o material foi submetido ao desgaste com auxílio de uma politriz (AROPOL-E 120) com lixas de granulações decrescentes até alcançar a espessura ideal para a visualização das microestruturas (Lamm, 2013). As imagens foram produzidas por uma câmera digital acoplada ao microscópio óptico de luz com nicóis paralelos/cruzados (Zeiss Axio Imager.M2), para que assim as estruturas histológicas do osso pudessem então ser analisadas.

3 Resultados e Discussão

As amostras da tíbia e do fêmur apresentam complexo ósseo fibrolamelar, caracterizado pela presença de tecido paralelo fibroso nas regiões periosteal e medular, além de tecido fibroso na região medial do córtex. Ambos os ossos apresentaram osteons primários e canais vasculares simples, sem a presença de osteons secundário (Figura 1). Não estão presentes em nenhuma das amostras qualquer tipo de marca de crescimento tais como linhas de pausa de crescimento ou anule. Apesar de ambos apresentarem padrões microestruturais semelhantes, a organização vascular do fêmur é distinta. Seus canais são circulares, orientados sob um padrão laminar (Figura 1: A; tabela 1).

Tíbia	Fêmur
Tecido Paralelo fibroso nas regiões periosteal e medular;	Tecido Paralelo fibroso nas regiões periosteal e medular;
Tecido fibroso na porção medial	Tecido fibroso na porção medial
Ósteons primários e canais simples	Ósteons primários e canais simples
Organização dos canais (ósteons oblíquos)	Organização dos canais (ósteons circulares e oblíquos)
Vascularização reticular	Vascularização Laminar;
Ausência linhas de pausa de crescimento	Ausência linhas de pausa de crescimento
Ausência de anule	Ausência de anule

Tabela 1: Identificação osteohistológica das amostras do fêmur e da tíbia de *A. platyrhynchos*.

O tecido fribrolamelar encontrado nas amostras de *A. platyrhynchos* é normalmente identificado em aves tanto de porte médio quanto em aves de grande porte (DE MAGERIE et al., 2002). Tanto na tíbia como no fêmur é possível detalhar a linha de desenvolvimento deste espécime com base na sequência aposicional dos tecidos que formaram essa matriz fibrolamelar. O gatilho no crescimento deste indivíduo inicia-se com a formação do tecido paralelo fibroso na região endosteal do córtex. Nesta região, as fibras parecem estar organizadas de forma bastante próximas e paralelas, em camadas concêntricas. Os vestígios deste tecido, com maior organização dos osteócitos e dotado de poucos canais vasculares simples, indicam um crescimento mais lento na região do córtex endosteal (Figura 1: A e C).

Na porção medial do córtex ficou gravada a segunda fase do crescimento, com a deposição do tecido fibroso composto por osteócitos dispostos aleatoriamente ao longo da matriz fibrosa. Além deles, canais vasculares amplos e obliquamente ramificados estão organizados em padrão reticular com canais longitudinais na tíbia, e com uma organização reticular e laminar, no fêmur. Estes são padrões que possibilitam maior irrigação sanguínea nesta região durante a aposição deste tecido, que neste momento teria crescido sob altas taxas de deposição óssea (Figura 1: B e C).

Apesar da similaridade atribuída a estas organizações vasculares na porção média do córtex das duas amostras, admite-se que no fêmur ocorreu um ritmo ainda mais acelerado de deposição do tecido fibroso devido à presença do padrão vascular do tipo laminar, quando comparado ao padrão reticular encontrado na tíbia. Segundo Lamm (2013), o arranjo laminar dos canais proporciona os maiores níveis de aporte sanguíneo, e consequentemente maiores taxas de formação tecidual.

Os estudos recentes sobre esta espécie demonstraram que a presença da vascularização laminar em alguns ossos pode ser uma adaptação às cargas de torção enfrentadas durante o voo, sendo a ulna indicada como o osso de maior laminaridade dentre os principais ossos de apoio das asas (DE MAGERIE, 2002). Apesar do fêmur não estar ativamente ligado ao voo, a laminaridade neste elemento é bastante representativa no córtex medial, porém mesclada com o padrão reticular. Assim, além da resistência à torção necessária ao voo promovida pela organização laminar, o arranjo reticular agregaria também resistência à torção e maior adaptação a tensões (CUBO; CASINOS, 2000), o que aponta uma provável adaptação deste elemento como membro acessório ao voo, principalmente nas tensões de aterrissagem e também ao bipedalismo. Adicionalmente, a organização de forma reticular e longitudinal dos canais visto na tíbia, conferem resistência para suportar as tensões referentes a compressão e as cargas de flexão associadas a atividades essenciais como caminhar ou alçar o voo (CUBO; CASINOS, 2000).

A presença de uma matriz com tecido fibroso formado apenas por osteons primários, canais simples e a ausência de remodelamento secundário, identificados neste estudo (Figura 1), caracterizam uma microestrutura amplamente documentada em aves, tanto pela ampla plasticidade vascular, citada acima, quanto pela manutenção de estruturas primárias nos ossos ao longo de toda a vida (DE RICQLE'S ET AL., 1991).

A alteração do arranjo vascular só é novamente alterada na porção superior do osso compacto, com a retomada da deposição do tecido paralelo fibroso composto por pouquíssimos canais vasculares, orientados circular e longitudinalmente. A organização destes canais é semelhante tanto no córtex periosteal do fêmur quanto da tíbia. As

amostras analisadas deste indivíduo não apresentam sistema circunferencial externo (EFS), a presença desta estrutura indicaria que o desenvolvimento assintótico do osso já teria chegado ao fim.

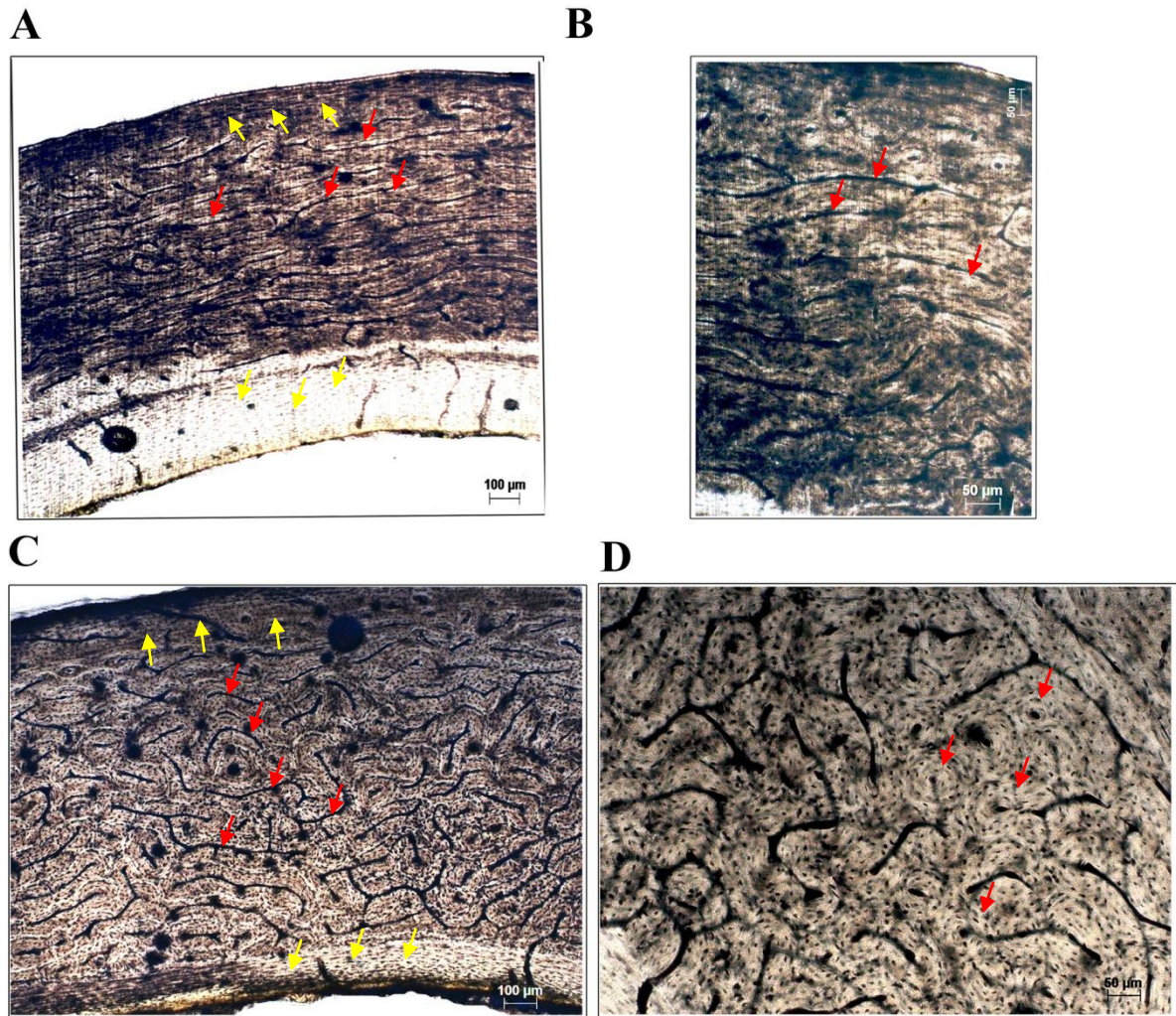


Figura 1: Seções histológicas de *A. platyrhynchos*. A-corte transversal do fêmur, composto por um padrão de vascularização laminar (vermelho) e tecido paralelofibroso na região periosteal e medular (amarelo). B-Detalhe da porção central do cortex do fêmur mostrando a presença de um tecido paralelofibroso (vermelho). C-Seção transversal da tíbia mostrando um padrão de vascularização reticular (vermelho) e tecido paralelofibroso na região periosteal e medular (amarelo). D-Destaques da porção central do cortex da tíbia onde podem ser observados osteons primários (vermelho).

4 Conclusão

Na análise da histologia óssea de *A. platyrhynchos* foi identificada uma matriz formada por complexo fibrolamelar de vasta plasticidade vascular com ausência de lamelas externas, apontando um crescimento rápido. A conformação tecidual sugere que o espécime analisado ainda não teria alcançado o fim de seu desenvolvimento assintótico. Como consequência da diversidade vascular, cada arquitetura óssea foi relacionada a um grupo de adaptações que possibilita o sucesso de uma função. Portanto, a presença de canais laminares e reticulares no fêmur estaria relacionada as adaptações deste

elemento como membro assessorio imprescindível a sustentação esquelética e secundariamente ao voo, visto que a laminaridade estaria diretamente relacionada a ossos com esta função, confirmando a proposta de Margarie (2002). Já a tíbia, composta por tecido ósseo com canais sob padrão reticular e longitudinal potencializaria resistência as tensões relacionadas a compressão e as cargas de flexão essenciais para caminhar ou mesmo alçar voo.

5 Agradecimentos e apoios

Agradecemos ao McC Rafael César Lima Pedroso de Andrade pelas valiosas discussões que contribuíram para realização deste trabalho. As agências financiadoras CAPES, FACEPE e CNPq (proc. 458164/2014-3 para JMS)^[1]_{SEP}.

6 Referências

- CUBO, J.; CASINOS, A. Incidence and mechanical significance of pneumatization in the long bones of birds: *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 130, n. 4, p. 499-510, 2000.
- DOMINGUES, O. Introdução a zootecnia: Serviço de informação agrícola-ministério da agricultura, pag: 143, 1968.
- MARGERIE, E. Laminar bone as an adaptation torsional loads in flapping flight: *Journal of Anatomy*, 201: 521-526, 2002.
- MARGERIE, E.; CUBO, J.; CASTANET, J. Bone typology and growth rate: testing and quantifying Amprino's rule' in the mallard (*Anas platyrhynchos*): *Comptes Rendus Biologies*, 325: 221-230, 2002.
- RICQLÈS, A.; MEUNIER, F.J.; CASTANET, J.; & FRANCILLON-VIEILLOT, H. Comparative microstructure of bone. In: B.K. Hall (Ed.), *Bone. Bone Matrix and Bone Specific Products*. Boca Raton: CRC Press, 3: 1-78, 1991.
- LAMM, E.T. Bone Histology of Fossil Tetrapods. In: Padian, K. & Lamm, E-T (Ed). *Preparation and Sectioning of Specimens*. University of California Press, 55-160 pp, 2013.
- SAYÃO, J.M. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminar results. *Geological Society Special Publication*, 217: 335-342, 2003.
- VIEIRA, J.F. Uma abordagem sobre a origem do pato e do marreco a importância econômica das espécies para a agropecuária, 2009.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA OSTEOSSARCOMA CANINO

**Sabrina Cândido Trajano¹; Grazielle Anahy de Sousa Aleixo Cavalcanti¹;
Breno Bezerra Aragão¹; José Alexandre Melo dos Santos¹; Thaynar Rakell
Carlos Cavalcante Santos²; Maria Duarte Kobayashi².**

¹Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE, Recife, PE, Brasil.

²Departamento de Medicina Veterinária/UFPB, Areia, PB

E-mail do primeiro autor: sabrina-vetbio@hotmail.com

Resumo

Dentre as diversas neoplasias relatadas na literatura médica veterinária que acometem os cães, o osteossarcoma é o tumor ósseo primário mais frequente na espécie. O osteossarcoma é um tumor maligno localmente invasivo e altamente metastático, que pode afetar tanto o esqueleto apendicular quanto o axial. Acomete principalmente ossos longos como tíbia e rádio de cães machos de raças grandes a gigantes. Os sinais clínicos mais observados variam entre dor, claudicação, aumento de volume, tumefação, edema e fraturas espontâneas. O diagnóstico deve ter como base a história clínica do paciente, exame físico geral e específico e exames complementares. Diversos exames podem ser realizados para auxiliar no diagnóstico precoce da doença como exame radiográfico, tomografia computadorizada, cintilografia, citológico, histopatológico, imuno-histoquímica e dosagem de fosfatase alcalina. O prognóstico do paciente vai depender da localização da neoplasia, do grau de comprometimento, presença de metástase e tratamento precoce.

Palavras-chave: *Canis familiaris*, tecido ósseo, tumor maligno.

1 Introdução

Osteossarcoma é uma neoplasia maligna que afeta a formação de osso ou tecido mesenquimal, extremamente agressivo, tanto no local de crescimento quanto na formação de metástase. O crescimento do tumor é rápido e doloroso, podendo se manifestar como uma massa grande de coloração branco-bronzeada, arenosa ou cística com quantidades variáveis de osso mineralizado (KLEINER e SILVA, 2003).

Tumores ósseos primários correspondem de 4% a 6% de todos os tumores malignos diagnosticados em cães. Dentre eles, os osteossarcomas são os mais frequentes na espécie *Canis familiaris* (MEHL et al., 2001) representando 80% a 95% das neoplasias ósseas na espécie (OGILVIE, 2003).

Apesar de a etiologia ainda não está bem definida, acredita-se que vários fatores podem predispor o osteossarcoma, como radiação ionizante, produtos químicos, implantes metálicos e enxertos utilizados em cirurgia ortopédica, fraturas com atraso de consolidação, transformação de tumores benignos em malignos e traumas ósseos (DALECK 2006; TILLEY e SMITH Jr, 2003). Mutações na expressão dos genes Rb e p53 foram identificados e também alterações nos fatores de crescimento, citocinas e sinalizações hormonais. A expressão da cicloxigenase-2 (COX-2) parece estar aumentada nas células tumorais sendo o seu nível de expressão relacionado ao prognóstico do paciente (DERNELL; STRAW; WITHROW, 2001).

Com relação à localização do tumor, 75% dos osteossarcomas desenvolvem-se no esqueleto apendicular, sendo a região proximal do úmero e tíbia e distal do rádio e fêmur mais prevalentes (MORRIS e DOBSON, 2001; HECKLER et al., 2004). A maioria tem origem no canal medular de ossos longos, mas pode se originar na superfície cortical e no periósteo. Ainda pode se desenvolver em sítios não esqueléticos como nas glândulas mamárias, no fígado, no baço, no trato gastrointestinal, nos pulmões e na pele sem apresentar lesão óssea primária (DALECK et al., 2006; JOHNSON e HULSE, 2005).

Ocorre com mais frequência em cães de grande porte e gigantes com idade média de 7 anos sendo os machos mais acometidos (OGILVIE 2003; KLEINER e SILVA, 2003; TILLEY e SMITH Jr, 2003). O risco aumenta consideravelmente entre os 7 e 10 anos de idade chegando a 51% dos casos para essa neoplasia (TILLEY e SMITH Jr, 2003). Dentre as raças mais acometidas estão: São Bernardo, Doberman, Pastor Alemão, Golden Retriever, Boxer, Setter e Rottweiler, sendo estes os mais afetados correspondendo a 63% dos casos (TILLEY e SMITH Jr, 2003; SILVEIRA et al., 2008).

Os sinais clínicos observados são dor extrema, claudicação, aumento de volume local, tumefação, edema e fraturas espontâneas (SILVA 2009). Quando há metástases pode causar letargia, anorexia, perda de peso e dispneia (DERNELL; STRAW; WITHROW 2001; COSTA et al., 2008).

Intervenção cirúrgica associada à quimioterapia é o tratamento de escolha para dar maior sobrevida aos cães com osteossarcoma. O prognóstico vai depender do grau de desenvolvimento do tumor, local e presença de metástase (BERSANO 2006) e o nível de expressão da COX-2 nas células tumorais (DERNELL et al., 2001).

2 Métodos de diagnóstico

O diagnóstico é baseado na anamnese, exame físico, achados radiográficos e citologia. Quando o diagnóstico citológico é inconclusivo, sendo o diagnóstico final dado através de histopatologia (DALECK, 2006; AMARAL; ROMÃO; FERREIRA, 2013). Atualmente exames de cintilografia óssea (CO) e tomografia (TC) estão sendo realizados para diagnosticar a neoplasia tanto no local de crescimento quanto na formação de metástase, sendo os pulmões os mais afetados (KLEINER e SILVA, 2003).

O diagnóstico diferencial para outras doenças deve ser realizado quando se tem suspeita clínica de neoplasia primária, principalmente entre: osteomielite bacteriana ou

fúngica, outros tipos de tumores ósseos como condrossarcoma, adenoma, lipossarcoma ou neoplasias de tecidos moles, osteopatia hipertrófica, reação periosteal traumática e cistos ósseos aneurismais (TILLEY e SMITH Jr, 2003).

2.1 Exame radiográfico

É um método importante para avaliação da extensão do envolvimento ósseo e para diferenciação de outras doenças não neoplásicas como fraturas, osteomielite e doenças metabólicas (DALECK; FONSECA; CANOLA 2002). Radiograficamente, os osteossarcomas são caracterizados por osteólise, neoformação óssea irregular, edema de tecido mole com ou sem calcificação a região da metáfise do osso acometido. Pode ser observado o Triângulo de Codman como córtex destruído e proliferação do periosteio. Assim como indicado para outras neoplasias, é imprescindível acompanhamento de metástase pulmonares (NELSON e COUTO, 2014).

No exame radiográfico devem ser avaliados a densidade óssea, a conformidade do periosteio, a região cortical com relação a continuidade e espessura, as bordas e zonas de transição da lesão, a localização anatômica, lesão de tecidos moles, envolvimento de articulações e ossos adjacentes e presença de metástases (CARVALHO e IMASAKI, 2007).

2.2 Citopatologia aspirativa com agulha fina

A citologia aspirativa com agulha fina é um método pouco invasivo e apresenta baixo custo, que pode ser realizado sem anestesia. Apresenta 94,1% de precisão quando correlacionado com o histopatológico (SILVEIRA et al., 2008). É indicado utilizar agulha calibre 40x12, pois permite obter maior quantidade de material para análise, visto trata-se de uma neoplasia de consistência dura e pouco esfoliativa (O'ROURKE, 1983). Na análise, observa-se células de origem mesenquimal pleomórficas com anisocariose e anisocitose e individualizadas com abundante material eosinofílico extracelular, podendo também ter células bi ou multinucleadas (RASKIN e MEYER, 2003). As vezes é possível observar a presença de ilhas de material osteóide cercadas por células tumorais, quando presente, indica neoplasia de origem maligna (COWELL; TYLER; MEINKOTH, 2009).

2.3 Histopatologia

São observados diferentes níveis de produção de osteóide sintetizados pelas mesenquimais anaplásicas. No histopatológico, os osteossarcomas podem ser classificados de acordo com o tipo de células encontradas, podendo se enquadrar nos seguintes padrões: pobremente diferenciado, osteoblástico, condroblástico, fibroblástico, telangectásico e tipo células gigantes, e ainda são classificados de acordo com a quantidade de matriz produzida em: não produtivo, moderadamente produtivo e produtivo (MARTELLI et al., 2007).

2.4 Imuno-histoquímica

Permite a observação da quantidade, distribuição tecidual e localização celular de antígenos em cortes histológicos (CATALDO; FICARRA; MACII, 2012). A

osteocalcina é uma proteína não-colágena da matriz óssea podendo ser um importante marcador ósseo para tumores que produzem tecido ósseo como o osteossarcoma (CHEN et al., 2011). Sua especificidade para neoplasias que formam tecido ósseo é de 100%, inclusive em amostra sem evidências de tecido ósseo (HOENEHOFF et al., 2004; CHEN et al., 2012).

2.5 Dosagem de Fosfatase alcalina (FA)

FA é uma enzima de indução sintetizada no fígado, nos osteoblastos, nos epitélios intestinal e renal. Sua dosagem no soro pode auxiliar no prognóstico do animal. Quando a concentração de FA está elevada no momento do diagnóstico ou após o tratamento primário, pode indicar evidência clínica ou radiográfica de metástases (DALECK FONSECA; CANOLA, 2002). O osteossarcoma proporciona uma maior atividade sérica desta enzima devido a proliferação de osteoblastos nessa condição. Medir sua concentração é importante para saber a agressividade da quimioterapia, pois sabe-se que cães com atividades normais desta enzima antes da quimioterapia sobrevivem por mais tempo do que aqueles nos quais a enzima se encontra com atividade aumentada (GARZOTTO, 2003).

2.6 Cintilografia óssea

A cintilografia óssea é utilizada para o estadiamento de neoplasias, na detecção de metástases e na avaliação de traumas. Apresenta alta sensibilidade para lesões em tecidos ósseos, permitindo detectar qualquer região com atividade osteoblástica, incluindo osteoartrite e infecção, sendo necessário fazer o diferencial entre elas. Devido a essa característica é mais eficiente para diagnosticar tumores ósseos quando comparado ao exame radiográfico principalmente quando se refere à precocidade de detecção de metástase, em até 6 meses (KLEINER e SILVA, 2003).

2.7 Tomografia computadorizada

Permite o diagnóstico precoce da doença e das lesões metastáticas, sendo um grande aliado para o planejamento cirúrgico, principalmente quando o tumor se localiza no esqueleto axial, no qual o prognóstico depende do tratamento precoce (KLEINER e SILVA, 2003).

2.8 Ressonância magnética

A ressonância magnética é um método deficiente na resolução espacial. Tem capacidade de contraste superior à tomografia computadorizada, e tem a vantagem de permitir a avaliação do sistema nervoso central (MORRISON, et al., 1998).

3 Considerações

Os exames de radiografia e cintilografia se mostram bastante eficazes para auxiliar no diagnóstico do osteossarcoma, no entanto não devem ser utilizados sozinhos, deve ser considerado os dados obtido na anamnese, no exame físico do paciente, nos resultados citológico e histopatológico pra fechar o diagnóstico. O prognóstico para

osteossarcoma é reservado e depende do grau de agressividade, grau de comprometimento, localização da neoplasia e presença de metástase. O diagnóstico precoce é fundamental para a sobrevida do paciente.

4 Referências

- AMARAL, C.B.; ROMÃO, M.A.P.; FERREIRA, A.M.R. Biópsia óssea por agulha Jamshidi em cães – revisão de literatura. **Clinica Veterinária**, n.103, p.104-114, 2013.
- BERSANO, P.R.O. Expressão imunoistoquímica da cicloxigenase-2 (Cox2) e quantificação das regiões organizadas de nucléolos (NORs) nos diferentes padrões histológicos do osteossarcoma canino. 2006. 120f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- CARVALHO, C. F.; IWASAKI, M. Estudo Radiográfico das Lesões Neoplásicas Ósseas. In: ANAIS DO XII CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA, 1990, Gramado - RS, 1990.
- CATALDO, S.D.; FICARRA, E.; MACII, E. Computer-aided techniques for chromagenica immunohistochemistry: status and directions. **Computers in Biol. and Med.**, v.42, n.10, p.1012-1205, 2012.
- CHEN, H., et al. Osteocalcin gene expression is regulated by wild-type p53. **Calcif Tissue Int.**, v.89, n.5, p.411-418, 2011.
- CHEN, H., et al. P53 and MDM2 are involved in the regulation of osteocalcin gene expression. **Exp. Cell. Res.**, v.318, n.8, p.867-876, 2012.
- COSTA, T.C. et al. Osteossarcoma apendicular em cão: relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n.3, p. 63-65, 2008.
- COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J.H. 2009. **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. 2 ed. St. Louis: Mosby, 608 p.
- DALECK, C.R. et al. Estudo retrospectivo de osteossarcoma primário dos ossos da pelve em cães em um período de 14 meses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.43, n.1, p.125-131, 2006.
- DALECK, C.R.; FONSECA, C.S.; CANOLA, J.C. Osteossarcoma canino: revisão. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v. 5, p.233-242, 2002.
- DERNELL, W. S.; STRAW, R. C.; WITHROW, S. J. Tumors of the skeletal system. In: MacEwen, E. **Small animal clinical oncology**, 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001. p.378-417.
- GARZOTTO, C.; BERG, J. Musculoskeletal system. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 3.ed. Philadelphia: WB Saunders, p.2460-2471, 2003.
- HECKLER, M.C.T., et al. Osteossarcoma canino relato de caso. In: ANCLIVEPA ANAIS DO XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 2004, Gramado, n.2, p.66, maio 2004.

- JOHNSON, A.L.; HULSE, D.A. Artropatias. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2005.
- KLEINER, J.A.; SILVA, E.G. Tumores ósseos em pequenos animais. **Revista Med.Vep**, v.1, n3, 2003.
- MARTELLI, A. et al. Histopathological and histochemical aspects of osteosarcomas in dogs. **Estud. Biol.** p.179-189, 2007.
- MEHL, M. L., et al. Spontaneous regression of osteosarcoma in four dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v.219, n.5, p.614-617, 2001.
- MORRIS J. e DOBSON J. Skeletal system. In: **Small Animal Oncology**. Oxford: Blackwell Science, pp.78-93, 2001.
- MORRISON, W. B.; VONDERHAAR, M.A.; RICHARDSON, R.C. Biologia da Neoplasia. In: SLATTER. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 2ª ed. Vol. 2. São Paulo: Manole, p. 649 – 650, 1998.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.1188-1190, 2015
- OGILVIE, G. Principles of nutrition for the cancer patient. In: DOBSON, J.M., LASCELLES B.D. BSAVA. **Manual of Canine and Feline Oncology**. 2.ed. Gloucester. British Small Animal Veterinary Association: 2003, p. 130-135.
- O'ROURKE, L.G. Cytologic technics: sampling, slide preparation, staining. **Modern Veterinary Practice**, p. 185-189, 1983.
- RASKIN, R.E.; MEYER, D.J. **Atlas de citologia de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2003.
- SILVA, D.K. Preservação do membro em cães com osteossarcoma apendicular. 2009. f.45. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- SILVEIRA, P. R. et al. Estudo retrospectivo de osteossarcoma apendicular em cães. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.487-495, 2008.
- TILLEY, P.; SMITH Jr.; FRANCIS W. K. **Consulta Veterinária em 5 minutos: Espécies Canina e Felina**. 2ª ed. Barueri, SP: Manole, 2003.

O USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NA MODULAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA (REVISÃO DE LITERATURA)

**Caroline da Silva Leite¹; Luiza Borba de Almeida Madruga¹; Isabela Gilena
Lins dos Santos¹; Marcelo Weinstein Teixeira¹.**

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE ¹
mvcarolineleite@gmail.com

Resumo

As células-tronco são células de origem fetal, embrionária ou dos animais adultos, que possuem capacidade de se dividir indefinidamente. À medida que se dividem, tal tipo celular se torna mais específico em sua função e é utilizado como terapia alternativa na medicina humana e na medicina veterinária. Diferente do que se acredita, a terapia celular vai, funcionalmente, além da capacidade de diferenciação em tipos celulares que permitirão a substituição de tecidos degenerados. O objetivo desta revisão de literatura foi descrever de que forma o uso de células-tronco mesenquimais como terapia pode auxiliar na modulação da resposta inflamatória. Foi possível concluir que componentes celulares do próprio organismo, como as células-tronco, podem atuar auxiliando no combate aos efeitos indesejáveis (dor, perda da função) provenientes de respostas inflamatórias que vão além dos processos inflamatórios fisiológicos. É imprescindível o estudo e experimentação dessas novas terapias que possibilitam restabelecimento das funções fisiológicas dos animais.

Palavras chave: terapia Celular, tratamento, inflamação

1 Introdução

As células-tronco são células de origem fetal, embrionária ou dos animais adultos, que possuem capacidade de se dividir indefinidamente. Este tipo celular não possui especificidade quanto a sua função e tem capacidade de se diferenciar nas mais diversas células de funções específicas no organismo. De acordo com Silva Junior et al. (2009), as células-tronco podem ser classificadas de acordo com sua origem (embrionária ou não embrionária) ou ainda de acordo com sua capacidade de diferenciação (totipotentes, pluripotentes e multipotentes).

À medida que ocorre a divisão dessas células, elas se tornam mais limitadas e especializadas. “Células-tronco adultas” ou “multipotentes” nomeiam a fase mais restrita, cuja função se dá na reparação e manutenção tecidual. Outra possível divisão é

em células-tronco adultas, que compreendem as células-tronco hematopoiéticas (CTH), oriundas da medula óssea, células do cordão umbilical, além de sangue periférico e as Células-Tronco Mesenquimais (CTM), que se fazem presentes em regiões perivasculares de todos os tecidos adultos, em pequenas quantidades, incluindo a medula óssea, o tecido adiposo, o periósteo, o tecido muscular e órgãos parenquimatosos (SEGURA et al., 2007; PINTO FILHO et al., 2013).

Na medicina humana o exemplo mais comum do uso de terapia com células-tronco, que têm por objetivo tratar doenças e lesões através da substituição de células doentes por células saudáveis, está no transplante de medula óssea em pacientes com leucemia. O tratamento, neste caso, se dá pela fabricação de novas células sanguíneas aptas a exercerem suas funções e repovoarem a medula óssea do receptor (SEGURA et al., 2007). Na medicina veterinária muitos estudos citam o uso de CTM adultas autógenas (adquiridas de tecidos como o tecido adiposo e pulpa dentária do próprio animal) no tratamento de afecções como defeitos ósseos, displasias e distrofias. Diferente do que se acredita, a terapia celular vai, funcionalmente, além da capacidade de diferenciação em tipos celulares que permitirão a substituição de tecidos degenerados. De acordo com Souza et al. (2010), as CTM possuem a capacidade de se infiltrar ao redor de processos inflamatórios e tumorais participar da modulação desses processos, quando administradas *in vivo*. Por esse motivo, essas células podem ser utilizadas em terapias regenerativas, tratamentos da rejeição de enxertos e terapia gênica para o câncer.

O objetivo da presente revisão de literatura é descrever de que forma o uso de células-tronco mesenquimais, de forma terapêutica em situações clínicas presentes na rotina veterinária, podem auxiliar na modulação da resposta inflamatória.

2 Alguns Mecanismos da Resposta Inflamatória

Uma cascata de eventos se desenvolve após detecção de um estímulo nocivo pelos organismos na tentativa da construção de sua própria defesa. De acordo com Bechata e Szabó (2006), na fase inicial dos processos inflamatórios ocorrem principalmente as alterações vasculares como modificação no calibre dos vasos e no fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade vascular e exsudação de plasma e de células para o meio extravascular. Tais alterações são estimuladas por substâncias chamadas histamina e serotonina, liberadas por mastócitos e monócitos minutos após a agressão. Com o aumento da permeabilidade vascular, componentes como proteínas de alto peso molecular também são extravasadas, junto com o plasma presente nos vasos e ocorre ainda a marginalização dos leucócitos, que passam a circular junto ao endotélio. O endotélio local torna-se ativado, expressando moléculas de superfície que favorecem a aderência dos leucócitos e a eventual migração destes para os tecidos. Saem também para o espaço extravascular e são ativados alguns componentes do sistema complemento, do sistema gerador de cininas e do sistema da coagulação. Macrófagos

residentes no tecido lesado liberam citocinas inflamatórias, como IL-1, TNF- α e quimiocinas (FUJIWARA; KOBAYASHI, 2005).

Tais eventos desencadeados contribuirão na geração dos 5 sinais cardeais da inflamação: dor, rubor, calor, edema e perda da função. Segundo Carvalho e Lemônica (1998), uma série de substâncias mediadoras endógenas são produzidas no processo inflamatório pelos leucócitos e plaquetas circulantes, por células do endotélio vascular, por células imunes, incluindo os mastócitos, e por células do sistema nervoso periférico. Ainda segundo Carvalho e Lemônica (1998), entre tais substâncias podemos incluir principalmente a bradicinina, serotonina, produtos da cascata do ácido araquidônico, adenosina, histamina, neuropeptídeos como a substância P e citocinas liberadas pelas células imunes, destacando-se como mais importantes a interleucina-1 β (IL-1 β), fator α de necrose tumoral (TNF- α) e fator de crescimento do nervo (NGF). Tais mediadores possuem a capacidade de aumentar a sensibilidade de nociceptores de alto limiar, com consequente redução do limiar de percepção do estímulo doloroso e geração da hiperalgesia e dor espontânea (alodínia).

3 Modulação da resposta inflamatória pelas Células-Tronco Mesenquimais

As CTM podem desempenhar importante papel de modulador inflamatório e consequentemente amenizar os efeitos de respostas inflamatórias exacerbadas nas mais diversas alterações degenerativas. Segundo Souza et al. (2010), esse tipo celular possui a capacidade de se acumular ao redor de processos inflamatórios e tumorais quando administradas *in vivo*. Por esse motivo, essas células podem ser utilizadas em situações clínicas como terapia regenerativa, tratamento da doença do enxerto contra hospedeiro e terapia gênica para o câncer. Atualmente sabe-se que as CTM podem imunomodular tipos celulares tanto do sistema imune inato como do sistema imune adaptativo, tais como células dendríticas, células NK, neutrófilos, linfócitos T e B, e células T regulatórias. Na presença de células-tronco mesenquimais, as células dendríticas maduras diminuem a expressão de moléculas de superfície, tais como MHC II, CD11c, CD83 e moléculas coestimulatórias, além da diminuição da secreção de IL-12. A diminuição da expressão dessas moléculas e da secreção dessa citocina prejudica a apresentação antigênica por essa célula (BARTHOLOMEE et al., 2002). A inibição de células T por células-tronco mesenquimais leva à diminuição da produção de INF- γ tanto *in vitro* como *in vivo* e ao aumento da produção de IL-4, caracterizando uma alteração no perfil da resposta imune de pró-inflamatório para anti-inflamatório (NAUTA et al., 2006). Ainda de acordo com Souza et al. (2010), a maioria dos estudos realizados até o momento concorda que há participação de fatores solúveis envolvidos na imunossupressão, uma vez que o uso do sistema transwell (sistema que separa polimorfonucleares das células-tronco mesenquimais por uma membrana semipermeável) não impede a inibição da proliferação. Esses resultados também deixam

claro que, para ocorrer imunossupressão, não é necessário o contato célula-célula. Dentre os fatores solúveis secretados pelas células-tronco mesenquimais objetivando a imunomodulação destacam-se: fator de crescimento transformante, fator de crescimento dos hepatócitos, indoleamina 2,3- dioxigenase, prostaglandina 2 e óxido nítrico.

Muitos estudos têm sido desenvolvidos em torno da terapia celular na medicina veterinária e seu uso já faz parte da rotina clínica em alguns centros de terapia, além disso, a utilização experimental nos animais domésticos também se faz presente em dias atuais, à exemplo do projeto de mestrado intitulado “Uso de células-tronco mesenquimais no tratamento de displasia Coxofemoral” realizado no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA/UFRPE. O projeto possui a pretensão de avaliar como se dá a modificação da resposta inflamatória após aplicação local de CTM e as mudanças na qualidade de vida dos animais que possuem a displasia coxofemoral. Carvalho (2009) avaliou a atuação de CTM autólogas (provenientes de tecido adiposo do próprio animal) em lesão induzida do tendão do músculo flexor digital superficial, sendo esta uma importante causa de claudicação em equinos atletas, e obteve como resultado aceleração do processo de cicatrização tendínea, melhor organização cicatricial, e fazendo uma comparação entre o grupo tratado e o grupo controle houve maior expressão do colágeno tipo I. O procedimento demonstrou ser seguro e viável. Também experimentalmente em lesões induzidas em equinos, Yamada (2011) observou melhor tecido de reparação em animais submetido a lesões condrais articulares e tratados com implante autólogo de plasma rico em plaquetas (PRP) e CTM. Olsson (2009) estudou a ação da implantação de células-tronco com fração total de células mononucleares autógenas da medula óssea na lesão iatrogênica aguda de tendão calcâneo de cães e observou como resultado o favorecimento a fase proliferativa do reparo tendíneo entre o 14º e 30º dias após o tratamento. Reis et al. (2011) apontou a terapia celular como possível alternativa no tratamento de doenças periodontais em cães, que tem como consequência a formação de graves defeitos ósseos. Células-tronco autógenas provenientes da medula óssea de cães foram cultivadas e aplicadas em defeitos periodontais agudos. Analisadas após seis semanas de tratamento, essas células foram observadas no osso alveolar, ligamento periodontal, cemento e vasos sanguíneos, exibindo marcadores de superfície típicos de osteoblastos e fibroblastos, mas a análise da quantidade de tecidos regenerados não foi realizada (WEI et al., 2010). De forma semelhante, LIU et al. (2010) utilizaram células-tronco do ligamento periodontal, com resultados semelhantes. OKUBO (2016) obteve resultados positivos ao tratar a dor crônica de cães com displasia coxofemoral usando plasma rico em plaquetas e células-tronco. Os grupos de animais tratados apresentaram melhora da dor em longo prazo sem efeitos adversos aparentes. Este trabalho demonstrou o possível efeito analgésico de terapias com CTM.

Com a presente pesquisa realizada pode-se concluir que componentes celulares do próprio organismo, como as células-tronco, podem atuar auxiliando no combate aos

efeitos indesejáveis (dor, perda da função) provenientes de respostas inflamatórias que vão além dos processos inflamatórios fisiológicos. É imprescindível o estudo e experimentação dessas novas terapias que possibilitam restabelecimento das funções fisiológicas dos animais.

4 Referências

BARTHOLOMEW, A. et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. **ExpHematol.** v. 30, n.1, p. 42-8, Jan. 2002.

BECHARA, G. H. PROCESSO INFLAMATÓRIO: Alterações Vasculares e Mediação Química. Online. 2006. Disponível em: http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/GERVASIOHENRIQUEBECHARA/inf lam_aspectosvasculares2006.pdf Acesso em: 01 jun 2017.

CARVALHO, A. M. **Implante Autólogos de Células-Tronco Mesenquimais do Tecido Adiposo no Tratamento de Tendinites Experimentais em Equinos: Avaliação Clínica, Ultrassonográfica, Histopatológica e Imunohistoquímica.** Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo, 2009.

CARVALHO, W. A; LEMÔNICA, L. Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos. **Ver. Bras. Anestesiol.** v. 48, n. 2, Março - Abril, 1998.

FUJIWARA, N; KOBAYASHI, K. Macrophages in inflammation. **Curr Drug Targets Inflamm Allergy**, v.4, n.3, p. 281-6, 2005.

LIU, Y. et al. Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. **Stem Cells**, v.26, p.1065- 1073, 2010.

NAUTA, A. J. et al. Donor-derived mesenchymal stem cells are immunogenic in an allogeneic host and stimulate donor graft rejection in a nonmyeloablative setting. **Blood**. 108, n. 6, p. 2144-20, Set. 2006.

OKUBO, C. E. O. **Efeito Analgético do Plasma Rico em Plaquetas e Células-Tronco na Dor de Cães Com Displasia Coxofemoral.** Tese (Mestrado em Biotecnologia Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo, 20016.

OLSSON, D. C. **Transplante de Células-Tronco Com a Fração Total de Células Mononucleares Autógenas da Medula Óssea na Lesão Iatrogênica Aduda de Tendão Calcâneo de Cães.** Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

PINTO FILHO S.T. L. et al. Células-Tronco mesenquimais adultas: Características e aplicações experimentais em animais. **Vet. e Zootec.** v. 20 (Edição Comemorativa), p.49-59, 2013.

REIS, E. C. C. et al. Regeneração periodontal em cães. **Ciência Rural**, v.41, n.12, dez, 2011.

SEGURA, D. C. A. et al. Células-tronco: as células capazes de gerar outros tipos de células. **Arquivos de ciências da saúde da Unipar.** v. 11, n. 2, p. 145-152, Maio/ago.

2007.

SILVA JUNIOR, G. C. et al. Células-tronco hematopoiéticas: utilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.31, suppl.1, p.53-58, 2009.

SOUZA, C. F. et al. Células-tronco mesenquimais: células ideais para a regeneração cardíaca?. **Rev. Bras. Cardiol. Invasiva**, v.18, n.3, São Paulo, 2010.

YAMADA, A. L. M. Arcabouço de PRP-gel associado a células tronco mesenquimais: uso em lesões condrais em modelo experimental equino. **Pesq. Vet. Bras.** v.36, n.6, p.461-467, Jun. 2016.

PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM CÂNCER RETINOBLASTOMA

**Yhasminie Karine da Silva¹, Elizabete Regina Silva Lucena dos Santos²,
Renatha Cláudia Barros Sobreira de Aguiar³, Thiago Carlos da Silva⁴,
Ivone Antônia de Souza⁵, Carina Scanoni Maia⁶**
^{1,2,3,5,6} Universidade Federal de Pernambuco
⁴Instituto Federal de Pernambuco
Yhasminiekarine73@gmail.com

Resumo

O Papilomavírus Humano (HPV) é também considerado uma doença sexualmente transmissível, cuja infecção associa-se à oncogênese. O Retinoblastoma (RB), tumor intraocular de maior incidência na infância, pode ter origem congênita (6%), familiar (10%) e não-hereditária (70%). Histologicamente, o RB é uma neoplasia composta por densa massa de células pequenas e redondas, com núcleo hipercromático e citoplasma escasso, onde necrose é um achado constante. Uma característica comum entre as duas formas de retinoblastoma (hereditária e esporádica) é que o gene retinoblastoma 1 (*RBI*) não é capaz de produzir a proteína supressora de tumor pRb funcional. Novas opções terapêuticas para o retinoblastoma tem surgido nos últimos anos, cada uma delas com riscos, benefícios e limitações particulares. Os estudos tem mostrado pouca evolução em relação à redução do tempo entre o início dos sintomas e a procura pelo médico e também em relação à rapidez no estabelecimento do diagnóstico e do tratamento adequado.

Palavras chave: Papilomavírus Humano, Oncogênese, Retinoblastoma.

1 Introdução

O Papilomavírus Humano (HPV) é também considerado uma doença sexualmente transmissível pela Organização Mundial de Saúde (OMS). As infecções causadas por HPV destacam-se pelo seu elevado número de casos e manifestações clínicas, além de serem identificados como fatores associados à oncogênese.

O câncer, doença multifatorial, inicia-se com o consequência de alterações múltiplas no DNA (Ácido Desoxirribonucléico) de uma única célula que mudam a sua constituição genômica. O estudo da composição genética individual ou populacional tem grande importância para a compreensão dos mecanismos moleculares associados à oncogênese. Neste contexto, vários estudos tem se focado ao entendimento da etiopatogenia de vários cânceres ligados à presença do HPV, como o retinoblastoma.

Diante da relevância do mecanismo molecular viral associado ao câncer, é evidente a necessidade de difundir o conhecimento sobre o HPV. Um levantamento de vários trabalhos que possuem este objetivo engloba tanto os estudos iniciais, que indicam o vírus como envolvido no desenvolvimento de cânceres, como diversas atualizações nas

pesquisas nesta área, objetivando uma discussão sobre a história, epidemiologia e o papel do HPV no processo da oncogênese.

É sugerido, portanto, que o HPV está relacionado ao desenvolvimento de câncer retinoblastoma, pois há diversas pesquisas e estudos que sugerem esta relação.

2 Retinoblastoma

O Retinoblastoma é o tumor intraocular de maior incidência na infância, ocorrendo em 1 a cada 15.000-20.000 crianças (SACHDEVA; O'BRIEN, 2012). Estima-se que ocorrerão cerca de 12.600 casos novos de câncer em crianças e adolescentes no Brasil por ano em 2017. As regiões Sudeste e Nordeste apresentarão os maiores números de casos novos, 6.050 e 2.750, respectivamente, seguidas pelas regiões Sul (1.320), Centro-Oeste (1.270) e Norte (1.210) (INCA 2016)

Com relação à natureza genética desse tumor, o RB pode ter origem congênita (6%) e familiar (10% dos casos), as quais, somadas, podem atingir um patamar de até 30%. Os casos não-hereditários ou esporádicos perfazem um total de 70% (YASBECK, 2000).

No que diz respeito a ocorrência desse tumor, um estudo que utilizou 14 registros de câncer de base populacional do Brasil mostrou que o retinoblastoma teve uma incidência relativamente alta em quase todos os registros. Esse estudo constatou que entre crianças de zero a quatro anos de idade, as maiores taxas de incidência ajustadas pela idade foram encontradas em Natal (27/milhão), Jaú (23/milhão), Goiânia (21,5/ milhão), São Paulo (21,5/milhão), Porto Alegre (19,4/ milhão), Manaus (15/milhão) e Salvador (14,6/milhão). Em Aracaju a taxa de incidência ajustada pela idade em crianças com 19 anos ou menos foi de 5,43/ milhão (CAMARGO et al, 2010).

Histologicamente, o RB é uma neoplasia composta por densa massa de células pequenas e redondas, com núcleo hipercromático e citoplasma escasso. Necrose é um achado constante, sendo característica a presença de células tumorais viáveis ao redor dos vasos (SCHWIMER; PRAYSON, 2001; SOUZA FILHO et al., 2005). Além disso, ocorre a formação de rosetas *Flexner-Wintersteiner* (Figura 1), que possuem um arranjo específico onde as células tumorais estão posicionadas de forma circular em torno de um lúmen (RAZEK; ELKHAMARY, 2011).

Uma característica comum entre as duas formas de retinoblastoma (hereditária e esporádica) é que o gene retinoblastoma 1 (*RBI*) não é capaz de produzir a proteína supressora de tumor pRb funcional. Esta proteína se liga e inativa fatores de transcrição, regulando a progressão do ciclo celular (HELIN et al., 1993). Uma vez que a proteína se torna não funcional, permite a progressão do ciclo da fase G1 para a S (CHOY et al., 2002).

A pRb não funcional é traduzida a partir do gene *RBI* mutado. Esta mutação inclui a inativação dos dois alelos ou perda do gene *RBI*, localizado no braço longo do cromossomo 13 (13q14.2) (SACHDEVA; O'BRIEN, 2012). A maioria dos casos de retinoblastoma resulta desse tipo de mutação. Porém existem casos de tumores com o gene *RBI* intacto, o que sugere mecanismos alternativos de inativação da pRb. Foi observado que determinadas oncoproteínas de HPV unem-se à pRb e a inativam, permitindo a replicação viral (DYSON et al., 1989; WHYTE et al., 1988).

Existe uma sobreposição considerável nos fatores de risco epidemiológicos para o desenvolvimento de retinoblastoma e infecção por HPV. Dados epidemiológicos e moleculares indicam que o HPV pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento do retinoblastoma (BUITRAGO-PÉREZ et al., 2009; PESSOA, 2014; MOODY; LAIMINS, 2010; ORJUELA et al., 2000). Em amostras frescas de retinoblastoma, Mohan et al. (2009) detectaram DNA de HPV-16, ratificando os estudos de associação entre o HPV e este tipo de tumor.

3 Diagnóstico e tratamento do retinoblastoma

Os sinais e sintomas dependem do tamanho do tumor e da localização, sendo o mais comum, a leucocoria, denominada “reflexo do olho de gato” (Figura 2), geralmente descrita pelos pais das crianças. Outras manifestações são: estrabismo, heterocromia, inflamação de órbita, hifena, perda de visão e glaucoma secundário (ANTONELI, 1999).

Novas opções terapêuticas para o retinoblastoma tem surgido nos últimos anos, cada uma delas com riscos, benefícios e limitações particulares a serem consideradas. A enucleação do olho envolvido tem sido o método de escolha para os casos unilaterais devido à ausência de efeitos colaterais durante o tratamento e a longo prazo. Quando há comprometimento bilateral, mas restrito ao globo ocular, ou unilateral com invasão do nervo óptico sugere-se a associação de radioterapia e quimioterapia para preservar o olho com possibilidade de visão (PEREZ, 1995).

A quimioterapia isolada não é suficiente para completo controle da doença. Após 2 meses de quimioterapia com 2 ciclos, existe um decréscimo de 35% na base do tumor e 50% na sua espessura, sendo necessário tratamento complementar para completa erradicação do tumor. O número de ciclos quimioterápicos a ser usado varia entre 2 a 6 ciclos de acordo com as particularidades de cada caso. Enquanto não existem estudos científicos padronizando o número de ciclos de quimioterapia, devem ser lembrados os efeitos a longo prazo que tal tratamento pode acarretar, e sua necessidade de terapia adjuvante (SHIELDS 1997).

Desde os primeiros relatos do tratamento de crianças com retinoblastoma, a sobrevivência destes pacientes tem aumentado dramaticamente. Este câncer mortal no século XX foi o tumor pediátrico com a maior taxa de sobrevivência em 2003 (NASERIPOUR et al., 2009). Apesar dos esforços de médicos e voluntários para aumentar a detecção precoce do retinoblastoma, os estudos tem mostrado pouca evolução em relação à redução do tempo entre o início dos sintomas e a procura pelo médico e também em relação à rapidez no estabelecimento do diagnóstico e do tratamento adequado (RODRIGUES et al., 2004).

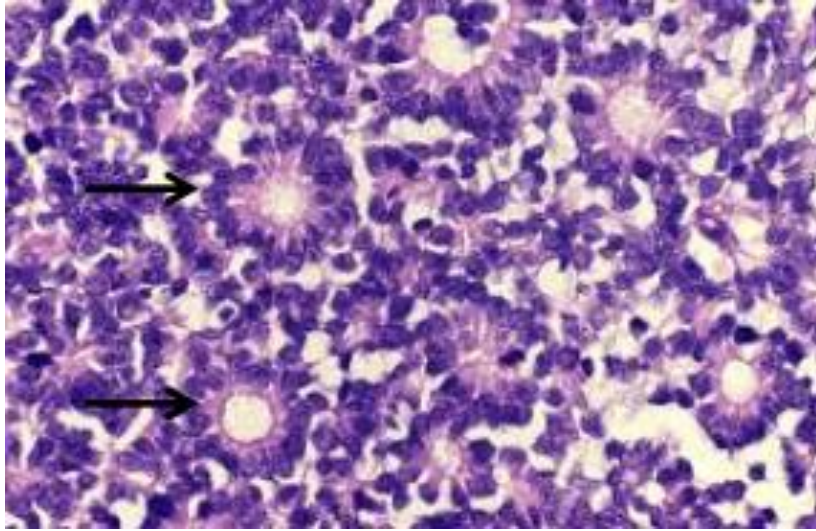


Figura 1: Corte histológico de retinoblastoma, evidenciando as rosetas de *Flexner-Wintersteiner* (setas)
(Disponível em <http://moon.ouhsc.edu>)



Figura 2: Olho com uma lesão característica de leucocoria devido ao retinoblastoma. (Fonte: Mahajan et al., 2011)

4 AGRADECIMENTOS

O presente estudo bibliográfico é grato ao departamento de Biologia Molecular da Universidade de Pernambuco (Campus Recife) pelo apoio durante toda a pesquisa.

5 Referências

ANTONELI, C. B. G. **Retinoblastoma**: análise da evolução clínica de pacientes portadores de retinoblastoma submetidos a tratamento multidisciplinar. 1999. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

BUITRAGO-PÉREZ, Á. et al. Molecular signature of HPV-induced carcinogenesis: PCR, p53 and gene expression profiling. **Curr. Genom.**, v. 10, n. 1, p. 26-34, 2009.

- CAMARGO, B. et al. Cancer incidence among children and adolescents in Brazil: first report of 14 population-based cancer registries. **International Journal of Cancer**, v. 126, n. 3, p. 715-20, 2010.
- CHOY, K. W. et al. Loss of heterozygosity and mutations are the major mechanisms of Rb1 gene inactivation in chinese with sporadic retinoblastoma. **Hum. Mut.**, v. 20, n. 5, p. 408–408, 2002.
- DYSON, N. et al. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. **Science, Washington**, v. 243, n. 4893, p. 934– 937, 1989.
- HELIN, K.; HARLOW, E.; FATTAEY, A. Inhibition of E2F-1 transactivation by direct binding of the retinoblastoma protein. **Mol. Cell. Biol.**, v. 13, n. 10, p. 6501– 6508, 1993.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Incidência de câncer no Brasil**. 2016. Disponível em: <www.inca.gov.br >. Acesso em: 31 maio. 2017.
- MAHAJAN, A.; CRUM, A.; JONHSON, M.; MATERIN, M. Ocular neoplastic disease. **Seminars in ultrasound, computed Tomography and magnetic resonance**, v. 32, n. 1, p. 28- 37, 2011.
- MOHAN, A. et al. Detection of human papillomavirus dna in retinoblastoma samples: a preliminary study. **J. Pediatr. Hematol. Oncol.**, v. 31, n. 1, p. 8-13, 2009.
- MOODY, C. A.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. **Nat. Rev. Can.**, v. 10, n. 8, p. 550–560, 2010.
- NASERIPOUR, M. Retinoblastoma Survival in Iran: 10 Years Experience of a Referral Center. **Iranian Journal of Ophthalmology**, v. 21, n. 4; p.17-24, 2009.
- PEREZ; CARLOS, A. Principles and Practice of Radiation Oncology 3^a ed.- Philadelphia / **New York Lippincott-Raven Publisher**, 1995.
- PESSOA, N.D.S. **Estudos sobre a expressão do Papilomavírus Humano (HPV): avaliação comparativa sobre lesões cervicais, sangue periférico e retinoblastomas**. 2014. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- RAZEK, A.; ELKHAMARY, S. MRI of retinoblastoma. **Br. J. Radiol.**, v. 84, n. 1005, p. 775–784, 2011.
- ORJUELA, M. et al. Presence of human papilloma virus in tumor tissue from children with retinoblastoma: an alternative mechanism for tumor development. **Clin. Can. Res.**, v. 6, n.10, p. 4010–4016, 2000.
- RODRIGUES, K. E. S. et al. Atraso diagnóstico do retinoblastoma. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 6, p. 511-16, 2004.

SACHDEVA, U. M.; O'BRIEN, J. M. Understanding pRb: toward the necessary development of targeted treatments for retinoblastoma. **J. Clin. Invest.**, v. 122, n. 2, p. 425–434, 2012.

SHIELDS, C.L; SHIELDS,J.A; NEEDLE, M. et al. Combined chemoreduction and adjuvant treatment for intraocular retinoblastoma. **Ophthalmology**, v. 104, n. 12, p. 2101-2111, 1997.

SCHWIMER, C. J.; PRAYSON, R. A. Clinicopathologic study of retinoblastoma including mib-1, p53, and CD99 immunohistochemistry. *Ann Diag. Pathol.*, v. 5, n. 3, p. 148–154, 2001.

SOUZA FILHO, J. P. D. et al. Histopathologic findings in retinoblastoma. **Arq. Bras. Oftal.**, v. 68, n. 3, p. 327–331, 2005.

YASBECK, A.; SANTOS, F. R. G.; ANTONELLI, C. G.; ERWENNE. Retinoblastoma: correlação clínico-epidemiológico em 451 casos brasileiros. **Acta Oncol. Bras**, v. 20, n. 4, p. 153-157, 2000.

WHYTE, P. et al. Association between an oncogene and an anti-oncogene: the adenovirus e 1 a proteins bind to the retinoblastoma gene product. **Nature**, v. 334, n. 6178, p. 124–129, 1988.

PARTICULARIDADES ANATÔMICAS DOS RINS DO BICHO-PREGUIÇA (*BRADYPUS VARIEGATUS*)

Lucilo Bioni da Fonseca Filho¹, Felipe Coral dos Santos², Priscilla Virgínio de Albuquerque³, Emanuele Polimeni de Mesquita⁴, Júlio César dos Santos Nascimento⁵, Marleyne José Accioly Lins Amorim⁶

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

2 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal

3 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal

4 Programa de pós graduação em Ciência Animal Tropical

5 Professor em Centro Universitário Mauricio de Nassau

6 Professor Associado em Universidade Federal Rural de Pernambuco

Email: lucilofilho@gmail.com

Resumo

Os bichos-preguiça se encontram em risco de extinção, pois o homem em busca de desenvolvimento vem expandindo o seu território de ocupação desordenadamente. No cenário atual, pouco se conhece acerca dos aspectos tanto anatômicos quanto fisiológicos desses animais. Com hábito alimentar exclusivamente herbívoro, alimentam-se de folhas, flores, brotos, talos verdes e frutos, e normalmente apresentam baixa ingestão hídrica, sendo restrita à água das folhas, frutas e legumes que se alimentam. O presente resumo tem como objetivo descrever as particularidades acerca da anatomia dos rins do bicho-preguiça e diferenças em relação aos demais mamíferos.

Palavras chave: mamíferos, sistema excretor, xenarthra

1 Introdução

Em decorrência do avanço das fronteiras agrícolas, o meio ambiente vem cada vez mais perdendo espaço e sofrendo alterações significativas e relevantes, tais alterações proporcionam expressivas mudanças tanto aos animais quanto à vegetação, ameaçando desta forma o habitat natural de diversas espécies (BIANCHI et al., 2012). Tendo por base essas condições passa a ser de fundamental valor conhecer os aspectos das espécies arborícolas e herbívoras, tendo como exemplo a espécie *Bradypus variegatus*, espécie esta que ocorre em regiões neotropicais (WILSON & DEEANN, 2005), desde o nordeste brasileiro até Honduras (MORAES-BARROS et al., 2006).

Estudar animais da família Bradypodidae com relação à sua morfologia se compara a voltar na história de evolução dos desenhos corporais, visto que apresentam padrões primitivos de estrutura física. A carência de dados acerca dos bichos-preguiça e a necessidade de conhecimentos no tocante às suas particularidades contribuiu de forma significativa para ampliar os estudos referentes aos aspectos morfofisiológicos desses mamíferos. Nosso país é o habitat natural da maioria das espécies ou de todas as espécies de preguiças vivas (WETZEL & KOCH, 1973). Dessa forma, o Brasil ocupa uma posição de maior reserva natural de bradipodídeos, permitindo que esses animais sejam observados como referências biológicas para os estudos de caráter multidisciplinar, contribuindo deste modo para a continuidade de estudos sobre temas como a filogenia, anatomia, histologia, patologia e ecologia desses mamíferos tão peculiares (AMORIM, 2003).

Entre os representantes da ordem *Xenarthra*, os bichos-preguiça representam os animais que menos consomem líquidos, sendo sua fonte de líquido restrita à água das folhas, frutos e legumes contido nos alimentos. Em consequência disso, é importante averiguar se esses animais tem alguma diferença morfológica ou mesmo na questão fisiológica, que possa explicar ou compensar o baixo consumo de água. Aspectos da biologia dos organismos são correlacionados à morfologia dos rins, tendo em vista que podem contribuir com subsídios para justificar as necessidades hídricas do organismo, além de facilitar o entendimento do seu modo de vida (BIANCHI et al., 2012).

O objetivo do resumo é descrever as características gerais do rim do bicho-preguiça, mostrando as diferenças e as particularidades em comum com os demais mamíferos.

2 Características gerais do bicho preguiça

A espécie *B. variegatus* apresenta altura em média do corpo de 58 cm, o comprimento da sua cauda é de 5,8 cm, e o seu peso médio é de 4,3 kg (WETZEL, 1985). A cor do seu corpo é marrom, sendo longa e grossa, podem ter algumas manchas brancas estando estas próximas à parte traseira do seu dorso (EISENBERG & REDFORD, 1999). A presença de três dedos e pescoço de cor marrom é a característica usada para determinação da espécie, outras características como apresentar a cabeça pequena e arredondada e orelhas não visíveis, tendo também presença de faixas pretas na testa e ao redor dos olhos.

As espécies do gênero *Bradypus* são especializadas, não apenas quanto às características anatômicas e fisiológicas, mas também no que se refere aos hábitos alimentares e comportamento (BRITTON, 1941). Geralmente sanam suas necessidades de água através da ingestão de folhas de imbaúba, ingazeira, figueira, frutos e legumes que ingerem seletivamente em sua dieta, por isso, quando em vida livre, as preguiças de um modo geral não têm o hábito de beber água em poças, lagoas ou rios (BRITTON, 1941; BARRETO, 2009).

Possuem uma dieta com elevada quantidade de celulose, alimentando-se preferencialmente de brotos, folhas jovens, flores e frutos. Consomem pelo menos 31 espécies de plantas e provavelmente outras adicionais. Para que haja êxito na escolha da dieta herbívora, o estômago desses animais é grande e complexo, diferente dos estômagos simples dos membros insetívoros dos *Xenarthras*. O estômago repleto de um bicho-preguiça representa cerca de 20-30% do corpo do animal (BRITTON, 1941) e a similaridade a um rúmen tem sido notada por vários autores (GRASSÉ, 1955; BUFFON, 1765; DAUBENTON, 1765;).

3 Aspectos anatômicos e morfológicos do aparelho renal do bicho preguiça(*Bradypus variegatus*)

Coral et al (2016) em sua pesquisa feita com oito bichos-preguiças adultas constatou que os rins eram semelhantes a um grão de feijão, de superfície lisa e de aspecto unilobado. Visto lateralmente, o rim demonstra uma margem convexa e na sua margem medial, uma superfície côncava sendo nesta localizado componentes como o hilo renal, porta de entrada e de saída para para vasos, nervos e pelve renal. O hilo renal possui estruturas semelhantes aos demais mamíferos são elas veia renal, artéria renal e ureter. Com o corte longitudinal foi possível observar que o rim não se apresenta dividido em lobos, sendo possível verificar duas regiões distintas, a região cortical sendo esta mais periférica e de coloração pálida e a região medular estando esta mais central e de coloração mais escura. É possível também observar uma camada adiposa que envolve os rins tendo função de proteção contra eventual trauma ou choques mecânicos e uma camada fibrosa sendo esta facilmente desprendida da superfície. Em relação aos aspectos vasculares, pode-se observar dos animais estudados no geral que o rim esquerdo há uma artéria apenas proveniente da artéria aorta que transporta sangue de forma direta sem sofrer desvio em sua trajetória. O rim direito, há também uma artéria apenas proveniente esta da artéria aorta, sendo que o tronco aortico que a origina sofre uma divisão em três vasos: a artéria renal direita, a artéria mesentérica e a artéria gonadal. Em ambos os rins há presença de dois ramos, o cranial e o caudal sendo estes ramos da veia renal que drena sangue rico em CO₂ para o coração pela veia cava caudal.

4 Conclusão

Apesar de particularidades encontradas no estudo do rim dos bichos-preguiça, há muitas características em comum nos aspectos anatômicos e morfológicos com relação aos demais mamíferos, sendo estes aspectos influenciados diretamente pela dieta cuja a qual o animal é submetido. Mesmo com a importância do tema, observa-se que há poucos relatos na literatura acerca do estudo da estrutura renal do bicho-preguiça, ficando difícil se fazer um estudo mais específico sobre o assunto.

5 Agradecimentos:

A todos que de alguma maneira me ajudaram com o presente trabalho fica registrado aqui o meu breve obrigado.

6 Referências:

- AMORIM, M.J. A. A. L.; MIGLINO, M.A.; AMORIM JÚNIOR, A.A.; SANTOS, T.C. Aspectos morfológicos da placenta da preguiça, *Bradypus variegatus* - Shinz, 1825. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, p. 217-226, 2003.
- Barreto, R.M.F. **Uso do habitat pela preguiça de coleira (*Bradypus torquatus*), no sul da Bahia, Brasil**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.
- BIANCHI, P. K. F. C.; CARDOSO, F.; SALVADORI, M. L.B.; LIMA, A. R.; SANTOS, G. M. F.; KFOURY JUNIOR, J. R. **Morfologia renal do *Bradypus torquatus***. **Biotemas**, p.201-205, 2012.
- BRITTON, S.W. Form and function in the sloth. **The Quarterly Review of Biology**. p.190-207, 1941.
- BUFFON, G. L. L. D. Historie naturelle générale et particulière, avec la description du cabinet du roy. **Imprimerie Royale**, p. 34-48, 1765.
- DAUBENTON, L. Historie naturelle générale et particulière, avec la description du cabinet du roy. **Imprimerie Royale**, p. 49-65, 1765
- EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. Mammals of the Neotropics: The central Neotropics. Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. **Chicago: The University of Chicago Press**, p. 660, 1999.
- GRASSÉ, P. P. Ordre des edentés. sous-ordre des Xenarthres. **Traité de Zoologie**, p. 1182-1246, 1955
- MORAES-BARROS, N.; SILVA, J.A.; MIYAKI, C.Y.; MORGANTE, J.S. Comparative phylogeography of the atlantic forest endemic sloth (*Bradypus torquatus*) and the widespread three-toed sloth (*Bradypus variegatus*) (Bradypodidae, Xenarthra). **Genética**, p.189-98, 2006.
- WETZEL, R.M.; KOCK, D. The identity of the *Bradypus variegatus* Schinz (Mammalia: Edentata). **Proceeding of Biological Society. Washington**, p. 25-34, 1973.
- WILSON, D.; DEEANN M.R. *Bradypus Variegatus*. **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3rd ed. vols. 1& 2. 2005.

PCR-RFLP COMO FERRAMENTA NA IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS DE *ASPERGILLUS NIGER*, ISOLADAS DE AMOSTRAS DE SOLO

**Suellen Emilliany Feitosa Machado¹, Hanna Katarina Lopes Ferreira¹,
Pedro Henrique do Bomfim Nascimento¹, Roger Fagner Ribeiro Melo¹,
Gláucia Manoella de Souza Lima-Gomes¹, Maria do Carmo Alves de Lima¹**
Universidade Federal de Pernambuco¹
suellen_feitosa_@hotmail.com

Resumo

O gênero *Aspergillus* compreende um grande grupo de organismos e representa uma fonte inestimável de compostos bioativos. Estudos que investigam o potencial biotecnológico dos micro-organismos são frequentes, mas antes de explorá-los, necessita-se identificá-los. Pesquisas que utilizam identificação polifásica são comuns, empregando mais de um método de identificação. Este trabalho objetivou identificar cepas de fungos filamentosos e diferenciá-las intraespecificamente. Os fungos foram identificados por microcultivo em lâmina e técnicas moleculares, com extração do DNA e amplificação da região ITS1-5.8S-ITS2 por PCR. Perfis de digestão foram gerados a partir de cortes dos produtos de PCR pelas enzimas de restrição *HhaI* e *MwoI*. As quatro cepas (S3, S13, S19 e S32) foram identificadas como *Aspergillus niger*. Após a digestão dos produtos de PCR, observou-se que S13 e S32 são iguais, pois apresentaram perfis de digestão iguais, e diferentes de S3 e S19. PCR-RFLP é um método rápido, confiável e eficaz, pois diferenciou claramente as cepas avaliadas.

Palavras chave: *Aspergillus niger*, identificação polifásica, PCR-RFLP.

1 Introdução

O gênero *Aspergillus* é bastante diverso e possui alto impacto econômico e social. Muitas de suas espécies são utilizadas na biotecnologia para a produção de metabólitos de interesse, como pigmentos, enzimas, vitaminas e medicamentos (SAMSON et al., 2014).

A identificação e a classificação dos fungos são aspectos de suma importância para diversas áreas. Bugni e Ireland (2004) enfatizam que estes aspectos são fundamentais para o estudo de produtos naturais, por exemplo. Sem identificação adequada, investigações químicas dos fungos tornam-se difíceis de serem reproduzidas.

Para identificar as espécies, pesquisadores têm relatado a importância de uma abordagem polifásica, ou seja, a combinação de diferentes ferramentas de identificação. Tradicionalmente, a taxonomia clássica baseia-se em observações de características macro e microscópicas de estruturas fúngicas (BUGNI e IRELAND, 2004). Técnicas moleculares incluem a amplificação da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) do

DNA por PCR (*Polimerase Chain Reaction*), a qual é conhecida como um marcador universal de código de barras de DNA para fungos e é considerada o padrão-ouro para a identificação dos mesmos (LECELLIER et al., 2014).

Uma das variações da técnica de PCR é a RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), que baseia-se no corte de um fragmento de DNA por enzimas de restrição, as quais reconhecem sequências específicas do DNA e clivam a fita em fragmentos mais curtos e de tamanhos diferentes. Com isso, perfis de restrição são gerados (TOLBA et al., 2013). Dentre as aplicações desta técnica, a RFLP-PCR detecta a variação intraespecífica em um gênero. Se dois organismos diferirem na distância entre os sítios de clivagem de uma enzima de restrição, o comprimento dos fragmentos produzidos vai diferir quando o DNA for digerido com uma enzima (GLEN et al., 2001). Logo, a presença de diferentes fragmentos de restrição pode servir como um *fingerprint* genético de uma determinada espécie (BALINI et al., 2015).

Sendo assim, este trabalho teve por objetivo identificar cepas de fungos filamentosos e empregar a técnica de PCR-RFLP para diferenciá-las intraespecificamente.

2 Material e Métodos

2.1 Micro-organismos:

Os fungos filamentosos avaliados neste trabalho foram isolados a partir de amostras de solo coletadas nas Várzeas de Sousa, Paraíba (MACHADO, 2015) e encontram-se preservadas em água destilada (CASTELLANI, 1939) e em Agar Batata Dextrose (BDA), a -4 °C.

2.2 Microcultivo em lâmina:

Os fungos foram identificados pormicrocultivo em lâmina (RIDEELL, 1950, com adaptações). As cepas foram inoculadas em CYA (*CzapekYeastExtract Agar*) e, sobre o meio inoculado, colocou-se uma lamínula previamente esterilizada. As placas foram incubadas em estufa B.O.D. (*BiochemicalOxygenDemand*), a 25 °C, por 168 horas. Decorrido este tempo, a lamínula, com micélio aderido, foi retirada do ágar, coradalactofenol azul de algodão e examinada ao microscópio óptico.

Algumas características morfológicas observadas para a identificação foram: cor da colônia e do reverso; presença de pigmento solúvel; formação de exsudato; cor e forma dos conídios;seriação; forma da vesícula; presença de cleistotécio. Literaturas de referência foram utilizadas para auxiliar a identificação (KLINCH e PITT, 1988; SAMSON, 1974).

2.3 Identificação molecular

2.3.1 Extração do DNA dos fungos:

Os fungos foram cultivados em BDA e incubados a 30 °C, por 120 horas. Retirou-se 5 blocos de gelose(8x8mm), os quais foram cultivados em Caldo Batata Dextrose e incubados a 150 rpm, a 30 °C, por 72 horas. Os micélios foram obtidos por filtração a vácuo, congelados em nitrogênio líquido e macerados (RAEDER e BRODA, 1985). As extrações de DNA foram realizadas utilizando o *HiPurA™ Fungal DNA Purification Kit* (Himedia), seguindo as especificações do fabricante.

2.3.2 Amplificação e sequenciamento da região ITS:

A reação de PCR para amplificação da região ITS1-5.8S-ITS2 do rDNA foi realizada em volume total de 25 µL, utilizando tampão da Taq DNA Polimerase 1X, 1,5 mM de MgCl₂; 0,4 µM de cada primer ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), 0,2 mM de dNTPs, 0,2 U de Taq DNA polimerase e 50 ng/µL de DNA. O volume final foi completado com água Milli Q esterilizada.

A amplificação foi conduzida em termociclador programado para uma desnaturação inicial de 95 °C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos de desnaturação 95 °C por 30 segundos; anelamento a 62 °C por 1 minuto; extensão a 72 °C por 2 minutos e extensão final a 72 °C por 5 minutos.

Os produtos das extrações de DNA e das reações de PCR (50 µL) foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose a 0,8 e 1,5%, respectivamente, corados com *Sybr Safe®*, visualizado sob luz UV e fotodocumentados.

As amostras foram sequenciadas pela empresa Macrogen (Coreia do Sul) e as sequências comparadas no *GenBank* utilizando o software BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) do NCBI (*National Center for Biotechnology Information* - www.ncbi.nlm.nih.gov). As sequências foram alinhadas com software *Clustal*.

2.3.3 Caracterização molecular por PCR-RFLP:

A caracterização molecular dos isolados, em nível de espécie, foi realizada pela técnica de PCR-RFLP. Os produtos da amplificação da PCR de todas as cepas foram submetidos ao tratamento com duas enzimas de restrição: *HhaI* e *MwoI*. As reações de digestão enzimática dos produtos da PCR de todas as linhagens foram realizadas utilizando os reagentes citados no Quadro 1.

Reagentes	<i>HhaI</i>	<i>MwoI</i>
Produto de PCR	15,0 µL	15,0 µL
Enzima	1,0 µL	1,0 µL
Tampão	2,0 µL	2,5 µL

Água Milli Qesterilizada	-	1,5 µL

Quadro 1. Volumes dos reagentes utilizados na digestão enzimática dos produtos de PCR dos fungos, utilizando as enzimas *HhaI* e *MwoI* (Fonte: DIBA et al., 2014 e KIZIS et al., 2014, com adaptações)

Após o preparo das reações, os tubos foram incubados a 37 °C, por 120 minutos. A visualização dos fragmentos gerados pela PCR-RFLP foi realizada após eletroforese em gel de agarose a 2,0%, corado com *Sybr Safe®*. Para determinar o tamanho dos fragmentos gerados, utilizou-se um marcador de 100 pares de base (bp). Os géis foram observados em transiluminador de luz UV e fotodocumentados.

3 Resultados e Discussão

Através do microcultivo em lâmina, as quatro linhagens avaliadas neste trabalho foram fenotipicamente identificadas como pertencentes à espécie *Aspergillus niger*, de acordo com as morfologias macro e microscópica de suas colônias crescidas em meio CYA: colônias de cor preta e reverso bege; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; conídios globosos e pretos; vesículas globosas; clestotécio ausente e bisseriados. Algumas destas características podem ser observadas abaixo, na Figura 1.

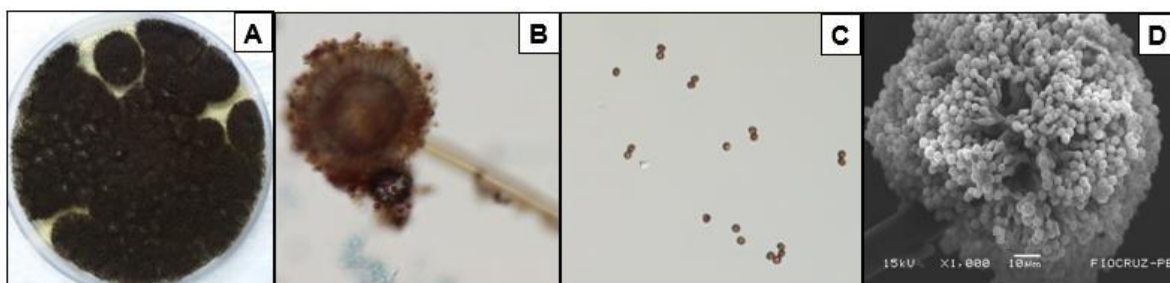


Figura 1. Características das colônias e as estruturas microscópicas de *Aspergillus niger* S3 A) Colônias cultivadas em CYA; B) Conidióforo (Microscopia óptica); C) Conídios (Microscopia óptica); D) Conídios (Microscopia Eletrônica de Varredura) (Fonte: O autor)

O DNA das linhagens foi extraído e amplificado eficientemente. A amplificação da região ribossomal ITS1-5.8S-ITS2 utilizando os primers ITS1 e ITS4 resultou em produtos de amplificação de uma única banda, com aproximadamente 600 pares de bases (bp) para todas as cepas.

O uso de técnicas moleculares, através da análise de DNA, possui a vantagem de ser um processo rápido e altamente sensível (MENEZES et al., 2010). Técnicas desenvolvidas a partir da PCR, como o sequenciamento de DNA, são ferramentas úteis na identificação de vários organismos, dentre eles os fungos. Entre os marcadores moleculares utilizados para este propósito, destaca-se o sequenciamento da região ITS, que é altamente conservada intraespecificamente, mas variável entre diferentes espécies,

o que possibilita a distinção ao nível específico (FUNGARO, 2000). Neste trabalho, o padrão de fragmento obtido da região ITS está dentro dos encontrados por vários autores para o gênero *Aspergillus* (CASTRILLO et al., 2012; TRYFINOPOULOU et al., 2015).

As sequências obtidas foram analisadas utilizando o BLAST, o qual estabelece comparações entre estas sequências e outras depositadas no *GenBank*, além de fornecer informações quanto à homologia entre elas. De acordo com Stackebrandt e Goebel (1994), para considerar que isolados pertencem a diferentes espécies, é necessário que ela possua uma homologia na sequência menor que 97%. Após análise das sequências, observou-se as 4 espécies possuem similaridade igual ou acima de 99% com as espécies comparadas no *Genbank*. Estes dados podem ser observados na Tabela 1.

Linagens dos fungos/pares de base	Homologia	Similaridade (%)
S3 (572 pb)	<i>Aspergillus niger</i> KP940589.1	100%
	<i>Aspergillus tubingensis</i> KF435033.1	100%
S13 (566 pb)	<i>Aspergillus niger</i> KP940589.1	99%
	<i>Aspergillus tubingensis</i> KF435033.1	99%
S19 (593 pb)	<i>Aspergillus niger</i> KY031976.1	100%
	<i>Aspergillus sp.</i> KR822140.1	99%
S32 (548 pb)	<i>Aspergillus niger</i> KP940597.2	100%
	<i>Aspergillus tubingensis</i> KM594388.1	100%

Tabela 1. Número de pares de base, homologia e similaridade entre os isolados e os gêneros depositados no banco de dados *Genbank*

A análise de agrupamentos com os primers ITS1 e ITS4 selecionados evidenciou a proximidade genética entre as espécies avaliadas e as sequências do *Genbank*. Como é possível observar, S3, S13 e S32 possuem a mesma porcentagem de similaridade para *A. niger* e *A. tubingensis*. Logo, evidencia-se a importância da identificação polifásica, pois a análise morfológica desempenhou um papel essencial para determinar a identificação das referidas espécies, já que a comparação das características macro e microscópicas observadas com dados da literatura permitiram identificá-las como pertencentes à espécie *Aspergillus niger*.

Na caracterização intaespecífica, realizada por PCR-RFLP, os produtos de PCR dos fungos foram eficientemente digeridos pelas enzimas de restrição *HhaI* e *MwoI*, que criaram diferentes perfis de digestão para cada isolado. Os tamanhos dos fragmentos gerados após a digestão enzimática são apresentados na Tabela 2.

Isolados	Tamanho dos cortes (pb)	
	<i>HhaI</i>	<i>MwoI</i>
S3	220; 190	220
S13 e S32	210; 180; 130	200
S19	360; 220; 50	360; 220

Tabela 2. Tamanhos dos fragmentos (pb) dos produtos de PCR ITS1-ITS4 após digestão utilizando as enzimas *HhaI* e *MwoI*

Diante dos perfis de digestão expostos acima, podemos afirmar que S13 e S32 são isolados iguais. Existe uma variabilidade suficiente na região do rDNA que pode servir como alvo para identificação dos isolados de *Aspergillus* utilizando PCR-RFLP e as sub-regiões ITS1-ITS2 foram reveladas como marcadores para a discriminação entre espécies através da digestão com enzimas específicas (DIBA et al., 2014). Alguns estudos obtiveram resultados promissores com a digestão enzimática utilizando *MwoI* e *HhaI*, pois foi possível realizar a diferenciação intraespécies de *Aspergillus* por meio da PCR-RFLP (DIBA et al., 2014; KIZIS et al., 2014).

Os resultados demonstram que a técnica utilizada foi eficaz na diferenciação intraespécie dos isolados aqui identificados. PCR-RFLP é uma técnica de rápida execução, confiável e econômica, que pode ser utilizada em trabalhos que visem diferenciar micro-organismos intraespecificamente.

4 Agradecimentos e apoios

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pelo apoio financeiro.

5 Referências

- BALINI, L. C.; LUIS, A. S.; SOARES, L. C.; VENDRUSCOLO, E. C. G.; FIORINI, A. Identificação Pela Técnica De PCR-RFLP, de *Aspergillus* spp. Isolados De Grãos De Soja E Milho. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, p. 83-99, 2015.
- BUGNI, T. S.; IRELAND, C. M. Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms. **Natural Product Reports**, v. 21, p. 143-163, 2004.
- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 24, p. 270276-6, 1939.
- CASTRILLO, M. L.; FONSECA, M.I.; BICH, G. A.; JERKE, G.; HORIANSKI, M. A.; ZAPATA, P.D. Taxonomy and phylogenetic analysis of *Aspergillus* Section Nigri isolated from yerba mate in misiones (Argentina). **Journal of Basic & Applied Genetics**, v. 23, ed. 2, p. 19-27, 2012.
- DIBA, K.; MIRHENDI, H.; KORDBACHEH, P.; REZAIE, S. Development of RFLP-PCR method for the identification of medically important *Aspergillus* species using single restriction enzyme *MwoI*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 503-507, 2014.
- FUNGARO, M.H.P. PCR na Micologia. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.14, p. 12-16, 2000.
- GLEN, M.; TOMMERUP, I. C.; BOUGHER, N. L.; O'BRIEN, P. A. Specificity, sensitivity and discrimination of primers for PCR-RFLP of larger basidiomycetes and their applicability to identification of ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* forests and plantations. **Mycological Research**, v. 105, n. 2, p. 138-149, 2001.

KIZIS, D.; NATSKOULIS, P.; NYCHAS, G. J. E.; PANAGOU, E. Z. Biodiversity and ITS-RFLP Characterisation of *Aspergillus* Section Nigri Isolates in Grapes from Four Traditional Grape-Producing Areas in Greece. **Plos One**, v. 9, ed. 4, p. 1-15, 2014.

KLICH, M. A.; PITT, J. I. A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs. **North Ryde**: [s.n.], 1988. 197 p.

LECELLIER, A.; MOUNIER, J.; GAYDOUA, V.; CASTREC, L.; BARBIER, G.; ABLAINC, W.; MANFAIT, M.; TOUBAS, D.; SOCKALINGUM, G. D. Differentiation and identification of filamentous fungi by high-throughput FTIR spectroscopic analysis of mycelia. **International Journal of Food Microbiology**, p. 168–169, 2014.

MACHADO, S. E. F. Produção de proteases por fungos isolados no semiárido da Paraíba e na Antártida. Dissertação, Universidade Estadual da Paraíba, 2015.

MENEZES, J. P.; LUPATINI, M.; ANTONIOLLI, Z. I.; BLUME, E.; JUNGES, E.; MANZONI, C. G. Variabilidade genética na região its do rDNA de isolados de *Trichoderma* spp. (biocontrolador) e *Fusariumoxysporum* f. sp. *Chrysanthemi*. **CiênciasAgrotécnicas.**, v. 34, n. 1, p. 132-139, 2010.

RAEDER, U.; BRODA, P. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. **Letters in Applied Microbiology**, v. 1, p. 17-20, 1985.

RIDDEL, R. W. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycology**, v. 42, p. 265-270, 1950.

SAMSON, R. A. *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. **Studies in Mycology**, CentraalbureauvoorSchimme-cultures, Baarn, v. 116, 1974.

SAMSON, R. A.; VISAGIE, C. M.; HOUBRAKEN, J.; HONG, S. B.; HUBKA, V.; KLAASSEN, C. H. W.; PERRONE, G.; SEIFERT, K. A.; SUSCA, A.; TANNEY, J. B.; VARGA, J.; KOCSUBE, S.; SZIGETI, G.; YAGUCHI, T.; FRISVAD, J. C. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, v. 78, p. 141-173, 2014.

STACKEBRANDT, E.; GOEBEL, B. M. Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16s rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 44, n. 4, p. 846-849, 1994.

TOLBA, S. T. M.; ALLAH, N. A. A.; HATEM, D. Molecular characterization of rare actinomycetes using 16S rRNA-RFLP. **African Journal of Biology Science**, v. 9, n. 1, p. 185-197, 2013.

TRYFINOPOULOU, P.; KIZIS, D.; NYCHAS, G. J. E.; PANAGOU, E. Z. Quantification of *Aspergillus carbonarius* in grapes using a real time PCR assay. **Food Microbiology**, v. 51, p. 139-143, 2015.

PCR-RFLP NO DIAGNÓSTICO DE *TOXOPLASMA GONDII*

Jéssica de Crasto Souza Carvalho¹, Pomy de Cássia Peixoto Kim¹, Renata Pimentel Bandeira de Melo¹, Elâine Lidia da Silva¹, Jonatas Campos de Almeida¹, Rinaldo Aparecido Mota¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE
jessicacrasto22@gmail.com

Resumo

Toxoplasma gondii é um coccídeo intracelular obrigatório, formador de cistos teciduais, responsável pela zoonose cosmopolita toxoplasmose. A análise desse parasito através da técnica PCR-RFLP é baseada na capacidade de endonucleases de restrição em reconhecer polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), digerir produtos de PCR e, posteriormente, exibir padrões de bandas distintos na eletroforese. O diagnóstico da diversidade genética do *T. gondii* através de ferramentas de caracterização genotípica, com destaque para a PCR-RFLP (Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição) de fácil replicação, é importante para compreensão da epidemiologia molecular, visto que variações na estrutura genética são extremamente relevantes para interpretar características como transmissão, imunogenicidade e patogênese.

Palavras chave: Caracterização genética; Linhagens clonais; Genótipos atípicos.

1 Introdução

Desde a primeira identificação de *Toxoplasma gondii*, em 1908, por Nicolle & Manceaux, até os estudos que identificaram a existência de três linhagens clonais do parasito (Dubey, 2010a), novas perguntas foram levantadas sobre possíveis variações imunogênicas e patogênicas observadas em diferentes isolados. Existe somente uma espécie de *Toxoplasma*, o *T. gondii*, e já foram descritas mais de 100 cepas e pelo menos três linhagens clonais (I, II, III) desta espécie (Dubey, 2010). A patogenicidade e a manifestação dos sinais clínicos variam de acordo com o genótipo do isolado de *T. gondii* e com o hospedeiro acometido (Dubey, 2010). Evidencia-se que os casos sintomáticos de toxoplasmose em humanos do continente europeu e Estados Unidos apresentam uma predominância de cepas do tipo II, e provavelmente outras regiões apresentam padrões genotípicos diferentes (Dardé et al., 2007). As cepas de *T. gondii* tipo I ocorrem predominantemente em casos de toxoplasmose humana congênita, enquanto que as cepas do tipo II são isoladas de forma prevalente em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida – AIDS (Montoya and Liesenfeld, 2004).

Atualmente, estudos moleculares trouxeram a tona a grande diversidade biológica existente entre as populações de *T. gondii*, identificando inclusive a existência de

genótipos atípicos encontrados, principalmente, na América do Sul, com marcada variação patogênica quando comparados aos isolados europeus. Sendo assim, o entendimento sobre diversidade genética de *Toxoplasma gondii*, através de ferramentas de caracterização genotípica, com destaque para a PCR-RFLP (Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição) de fácil replicação, torna-se importante para compreensão da epidemiologia molecular do parasito, visto que variações na estrutura genética são extremamente relevantes para interpretar características como transmissão, imunogenicidade e patogênese (Sibley et al., 2009; Su et al., 2010).

2 *Toxoplasma gondii* e suas linhagens

Toxoplasma gondii é um coccídeo intracelular obrigatório, formador de cistos teciduais, responsável pela zoonose cosmopolita toxoplasmose e descrito como o parasito mais frequentemente diagnosticado em todo mundo (JONES et al, 2005). Humanos e animais homeotérmicos, incluindo animais domésticos e silvestres são considerados hospedeiros intermediários (Dubey, 2004). No entanto, os felídeos são os únicos considerados como hospedeiros definitivos (Dubey, 2004). Com relação às características moleculares, Reid et al. (2012) descreveram o tamanho do genoma do *T. gondii* com 63,0 Mb, 14 cromossomos, 7286 proteínas que codificam genes e 28,3% de proteínas codificadoras de genoma.

A partir de estudos genéticos de Sibley (1995), com a utilização de isolados de *T. gondii* obtidos da Europa e dos Estados Unidos, concluiu-se que apesar de sua distribuição mundial e existência de um ciclo sexuado, sua estrutura populacional era altamente clonal, ou seja, caracterizada por uma baixa diversidade genética, agrupando o parasito em três linhagens clonais (I, II e III). Tal afirmação sendo justificada por uma expansão da progênie por meio de cruzamentos genéticos naturais entre tipos parentais altamente semelhantes, originando uma população clonal nos últimos 10.000 anos (Robert-Gangneux e Dárde, 2012). Em contraste com as observações iniciais, um estudo atual, utilizando novas técnicas moleculares para caracterização genética de *T. gondii*, verificou grande variabilidade genética, principalmente em amostras obtidas na América Latina (Dubey et al., 2008). Essa grande diversidade é associada à recombinação sexual do agente, como consequência da grande biodiversidade dessas regiões (Dubey et al., 2008). Ademais, as cepas recombinantes são resultados de pressões seletivas sobre a mais antiga cepa ancestral (tipo III), com forte influência sobre a virulência (Khan et al., 2009).

A virulência das amostras pode ser influenciada pela via de inoculação, estágio, genótipo do parasito e hospedeiro (Dubey et. al., 2005), existindo relatos de heterogeneidade do comportamento biológico de diferentes isolados do agente, sugerindo a existência de polimorfismo de DNA, o que influencia a patogenicidade da infecção pelo *T. gondii* (Sibley, 1995).

Além do isolamento do protozoário, tem se preconizado a utilização de modelos experimentais da infecção para observação da associação entre o genótipo e sua virulência, ou seja, a expressão fenotípica do isolado. Na utilização de bioensaios em

camundongos, a infecção pode manifestar-se de forma crônica, geralmente associada às linhagens clonais do tipo II e III, enquanto que as do tipo I são caracterizadas por apresentar marcada virulência, sendo observados quadros agudos de alta parasitemia (Dubey et al., 2010).

Ao realizar estudo com isolados de *T. gondii* de galinhas de várias partes do mundo, Lehmann e colaboradores (2006) determinaram a frequência de genótipos avaliando sete *locus* polimórficos e propuseram que o *T. gondii* é composto de quatro populações, sendo duas restritas às Américas do Sul e Central (SA1 e SA2); uma população presente na Europa, Ásia, África e América do Norte (RW), mas ausente nas Américas do Sul e Central; e uma quarta população com distribuição cosmopolita (WW).

Enquanto que ao analisar isolados de *T. gondii* de ao analisar isolados de *T. gondii* de diversas regiões do Brasil, Dubey et al. (2008) e Pena et al. (2008) identificaram grande diversidade genética e observaram a prevalência de quatro novos genótipos emergentes, denominados BrI, BrII, BrIII e BrIV. Estes genótipos apresentavam-se fenotipicamente distintos, sendo o tipo BrI altamente virulento a camundongos e o tipo BrIII avirulento, os demais apresentavam virulência intermediária.

Dessa forma, o estudo da variabilidade genética das cepas de *T. gondii* auxilia no diagnóstico e consequente avaliação do risco de desenvolvimento de casos graves em uma população (Pena et al., 2008). Segundo Demar e colaboradores (2008), o reconhecimento de cepas recombinantes associadas a casos atípicos de toxoplasmose em animais e humanos, inclusive em áreas onde o contato entre o homem e animais silvestres tem aumentado, eleva os riscos de casos graves da enfermidade.

3 Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP)

A análise de RFLP vem sendo utilizada para o estudo de diferentes protozoários como *Trypanosoma*, *Plasmodium*, *Naegleria* e *Acanthamoeba*, e helmintos como *Shistosoma*, *Acantamoeba* e *Taenia* (Cristina et al., 1991). Essa técnica é baseada na capacidade de endonucleases de restrição em reconhecer polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), digerir produtos de PCR e, posteriormente, exibir padrões de bandas distintos na eletroforese (Howe e Sibley, 1995). Sinteticamente, cada enzima de restrição reconhece uma sequência específica de quatro, seis ou oito bases; havendo a mudança de uma única base dentro dessa sequência, a enzima não clivará o DNA. Clivando-se duas moléculas de DNA relacionadas, contudo diferentes, com a mesma enzima de restrição, pode obter-se segmentos de comprimentos diferentes, que os separando com gel, originam bandas de diferentes pesos moleculares (Pena, 2004).

O desenvolvimento das técnicas de PCR tornou possível amplificar *locus* genéticos específicos para análise de RFLP, através de um número pequeno de células, tornando a técnica mais simples, bem como possibilitou a análise direta de amostras

sem a necessidade de cultivos prolongados dos isolados, e uma possível alteração da amostra fora do seu hospedeiro original (Sibley et al., 1995). Essa técnica detecta variações mínimas em um único gene, sendo amplamente utilizada (Singh, 1997). Visando demonstrar os benefícios da PCR-RFLP, comparações com outras técnicas de genotipagem revelaram que essa necessita de uma baixa quantidade de DNA necessária, ótima qualidade de DNA, uma boa reprodutibilidade e uma boa informatividade por loco (Caetano, 2009). Além disso, a técnica em RFLP é vantajosa por não necessitar de muitos utensílios avançados, apenas um termociclador e equipamentos de eletroforese (Caetano, 2009).

Inicialmente, Parmley et al. (1994) analisaram isolados de *T. gondii* por PCR-RFLP em três *locus* (v22 fragmento interno de 438 pb do gene P22, ou SAG2, que codifica para o segundo principal antígeno de superfície de taquizoítos, SAG1 e 850) e consideraram a possibilidade de haver três linhagens clonais entre as amostras, classificando como grupo A, as virulentas para camundongos, e grupo B e C, como não virulentas.

Posteriormente, Howe e Sibley (1995) analisaram isolados de *T. gondii* de várias espécies animais dos cinco continentes por RFLP, utilizando seis marcadores (SAG1, SAG2, ROP1, 850, L328 e 62), visando determinar a estrutura populacional de *T. gondii* e avaliar a relação do genótipo e a toxoplasmose humana e animal. Concluíram que o parasito apresenta uma estrutura populacional clonal, formada pelo Tipo I (virulento) e Tipo II e III (não virulento) e que enquanto as cepas de todas as 3 linhagens foram isoladas de seres humanos, a maioria dos casos de toxoplasmose humana estava associada a cepas de um genótipo tipo II.

Em seguida, Dardé et al. (1995) objetivando avaliar a relação das cepas de *T. gondii*, compararam as técnicas de RFLP associada ao método de Southern blotting com sondas radiomarcadas TGR1E e TGR6, e análise isoenzimática, definida por 5 zymodemes (Z1-Z5) obtidos pela combinação de seis sistemas enzimáticos: amino-transferase (ASAT), isomerase fosfato glicose (GPI), amilase (AMY), redutase glutatona (GSR), esterase propionil (PE), e ácido fosfato (ACP). Como conclusão, observaram que o polimorfismo genético detectado por RFLP associado às sondas hibridizantes foi superior ao encontrado pela análise isoenzimática, com destaque na relação entre a patogenicidade e os caracteres intrínsecos de cepas de *T. gondii*.

Dando continuidade aos estudos genéticos, Literák et al. (1998) através de RFLP, utilizando a sonda TGR1E, caracterizaram 22 isolados de *T. gondii* de animais e observaram que apenas um isolado pertencia a uma linhagem virulenta a camundongos, posteriormente, avaliou-se a alternativa de uso de variantes gênicas TGR como marcadores na identificação de isolados do parasito, destacando-se como algo vantajoso para tipagem e estudos de distância genética entre isolados do agente (Hogdal et al., 2000).

Dessa forma, a maioria dos estudos de genotipagem de *T. gondii* baseado na análise da PCR-RFLP utilizava poucos marcadores moleculares, principalmente o gene SAG2, que demonstrou não ser vantajoso tecnicamente por apresentar amplificações incompletas do gene SAG298 (Lehmann et al., 2000). Em virtude disso, Su e colaboradores (2010) preconizaram a utilização de dez marcadores moleculares (SAG1, SAG2, SAG3, c22-8, c29-2, L358, PK1, BTUB, GRA6, e Apico) para utilização na PCR-RFLP, sendo cada um capaz de diferenciar marcadamente as três linhagens clonais (I, II e III) de *T. gondii*. Através dessa técnica de PCR-RFLP *multilocus*, foi demonstrada a capacidade de distinguir os arquétipos dos isolados atípicos, evidenciando a diversidade genética do parasito. Isso pode ser comprovado através do estudo realizado por Dubey et al. (2006) que ao analisar 15 isolados de *T. gondii* provenientes de gatos da Colômbia pelo marcador SAG2, identificaram dez isolados do Tipo I, quatro do tipo III e um do tipo II e ao utilizar outros marcadores (SAG1, SAG3, BTUB e GRA6), observaram a ocorrência de amostras recombinantes.

Estes estudos realizados por Su et al. (2006; 2010) trouxeram significativos avanços na metodologia da caracterização genotípica de *T. gondii* por uniformizar a utilização de marcadores moleculares. Além disso, em 2007, foi criado o ToxoDB, um banco de dados relacionado a *Toxoplasma*, que reúne informações sobre genótipos e isolados descritos em todo o mundo (Gajria et al., 2007). Desde então, vários estudos genotípicos foram desenvolvidos de forma padronizada, possibilitando melhor caracterização e comparação entre isolados. Em 2012, Dubey et al. analisaram 363 isolados de *T. gondii* da região leste do Brasil e do estado de São Paulo utilizando os 10 marcadores genéticos padronizados. Foram identificados 106 genótipos únicos de *T. gondii*, sendo designados como um genótipo ToxoDB PCR-RFLP. Dentre os encontrados, os mais comuns foram #6, #8 e #11, que representaram 11,0% (40/363), 3% (23/363) e 5,5% (20/363), respectivamente (Dubey et al., 2012). Estes genótipos foram previamente designados como tipo BrI, BrIII e BrII por Pena et al. (2008).

O uso de métodos de caracterização molecular de *T. gondii* através de marcadores com maior grau de polimorfismo vem indicando a existência de linhagens recombinantes (Lehmann et al., 2004). Em prol do grande potencial zoonótico da toxoplasmose é altamente relevante a investigação genotípica proveniente de infecções em animais e de genótipos de produtos de origem animal, seja para analisar a relação entre o genótipo e as propriedades biológicas ou para o rastreamento epidemiológico do agente para identificação de vias de transmissão e fatores de risco (Soares, 2004).

4 Referências

Gajria, B.; Bahl, A.; Brestelli, J.; Dommer, J.; Fisher, S.; Gao, X.; Heiges, M.; Iodice, J.; Kissinger, J.C.; Mackey, A.J.; et al. ToxoDB: an integrated *Toxoplasma gondii* database resource. **Nucleic Acids Res.**, v.36, 2007.

Caetano, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no

melhoramento animal e perspectivas para o future. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.38, p.64-71, 2009

Cristina, N.; Oury, B.; Ambroise-Thomas, P.; Santoro, F. Restriction-fragment-length polymorphisms among *Toxoplasma gondii* strain. **Parasitology Research**, v.77, n.2, p.266-268, 1991.

Demar, M.; Ajzenberg, D.; Serrurier, B. et al. Case report: atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living Jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.78, p.195-197, 2008.

Dubey, J.P.; Salant, H.; Sreekumar, C.; Dahl, E.; Vianna, M.C.B.; Kwok, O.C.; Spira, D.; Hamburger, J.; Lehmann, T.V. High prevalence *Toxoplasma gondii* in a commercial flock of chickens in Israel, and public health implications off free-range farming. **Veterinary Parasitology**, v. 121, n. 3-4, p. 317-322, 2004

Dubey, J.P.; Chapman, J.L.; Rosenthal, B.M.; Mense, M.; Schueler, R.L. Clinical *Sarcocystis neurona*, *Sarcocystis canis*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* infections in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 137, p. 36-49, 2006.

Dubey, J.P.; Velmurugan, G.V.; Chockalingam, A.; Pena, H.F.J.; Oliveira, L.N.; Leifer, C. A.; Gennari, S.M.; Bahia Oliveira, L.M.G.; Su, C. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Brazil. **Vet Parasitol** , 57: 299–305, 2008.

Dubey, J.P., Rajendran, C.; Costa, D.G.C.; Ferreira, L.R.; Kwok, O.C.H.; Qu, D.; Su, C.; Marvulo, M.F.V.; Alves, L.C.; Mota, R.A.; Silva, J.C.R. New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: Unexpected Findings. **J Parasitol**, 96: 709-712., 2010.

Dubey, J.P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans**, 2nd ed. CRC Press, 2010.

Dubey, J.P.; Lago, E.G.; Gennari, S.M., Su, C.; Jones, J.L. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**. v. 139, p.1375-424, 2012.

Dumetre, A.; Ajzenberg, D.; Rozette, L.; Mercier, A.; Darde, M.L. *Toxoplasma gondii* infection in sheep from Haute-Vienne, France: Seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. **Veterinary Parasitology**, v. 142, n.3-4, p. 376-379, 2006.

Hogdall, E.; Vuust, J.; Lind, P.; Petersen, E. Characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates using polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphisms (RFLP) of the non-coding *Toxoplasma gondii* (TGR)-gene sequences. **International Journal Parasitology**, v.30, n.7, p.853-858, 2000.

Howe, D.K. e Sibley, L.D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. **J Infect Dis**, 172: 1561– 1566, 1995.

- Jones, J.L.; Lopez, B.; Mury, M.A.; Wilson, M.; Klen, R.; Luby, S.; Maguire, J.H.A. *Toxoplasma gondii* Infection in Rural Guatemalan Children. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.72, p.295-300, 2005.
- Khan A.; Fux B.; Su C.; Dubey J.P.; Darde M.L.; Ajioka J.W.; Rosenthal B.M.; Sibley L.D. Recent transcontinental sweep of *Toxoplasma gondii* driven by a single monomorphic chromosome. **Proc. Natl Acad. Sci. USA** , 104, 14 872–14 877, 2007.
- Khan, A.; Taylor, S.; Ajioka, J.W.; et al. Selection at a single locus leads to widespread expansion of *Toxoplasma gondii* lineages that are virulent in mice. **PLOS Genet.** 2009.
- Lehmann, T.; Blackston, C.R.; Parmley, S.F.; et al. Strain typing of *Toxoplasma gondii*: comparison of antigen-coding and housekeeping genes. **J Parasitol.** 86:960-71, 2000.
- Lehmann, T.; Marcet, P.L.; Graham, D.H.; Dahl, E.R.; Dubey, J.P. From the cover: globalization and the population structure of *Toxoplasma gondii*. **Proc Nat Acad Sci USA**, p. 11423-11428, 2006.
- Montoya, J. G. e Liesenfeld, O. Toxoplasmosis. **Lancet**, v.363, p.1965–1976, 2004.
- Parmley, S.F.; Gross, U.; Sucharczuk, A.; Windeck, T.; Sgarlato, G.D.; Remington, J.S. Two alleles of the genes encoding surface antigen P22 in 25 strains of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, v. 80, n.2, p.293-301, 1994.
- Pena, H.F.J. **Isolamento e caracterização biológica e genotípica de *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceau, 1909) de gatos do estado de São Paulo.** 2004.126p. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- Pena, H.F.J.; Gennari, S.M.; Dubey, J.P.; Su, C. Population structure and mouse - virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. **Int. J. Parasitol**, v.38, p.561-569, 2008
- Reid AJ, Vermont SJ, Cotton JA, Harris D, Hill-Cawthorne GA, et al. Comparative Genomics of the Apicomplexan Parasites *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*: Coccidia Differing in Host Range and Transmission Strategy. **PLoS Pathog**, 2012.
- Robert-Gangneux, F.; Dárde, M.L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. **Clin Microbiol**, v.25, p. 264–296, 2012
- Sibley, L.D.; Khan, A.; Ajioka, J.W.; Rosenthal, B.M. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans. **Philos Trans R Soc**, v.364, p. 2749–2761, 2009.
- Singh, B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. **Int J Parasitol**, v.27, p. 1135-1145, 1997.
- Soares, R.M. Caracterização Molecular de *Toxoplasma gondii*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p. 17-19, 2004, suplemento1.

Su, C.; Zhang, X.; Dubey, J.P.; Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: A high resolution and simple method for identification of parasites. **Int J Parasitol.** v. 36, p. 841-848, 2006.

Su, C.; Shwab, E.K.; Zhou, P.; Zhu, Q.X. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology**, v. 137, p. 1-11, 2010.

PEIXES COMO MODELO EXPERIMENTAL, QUESTÕES ÉTICAS E DE BEM-ESTAR

Isabela Gilena Lins dos Santos¹, Caroline da Silva Leite¹, Luiza Borba de Almeida Madruga¹ e Marcelo Weinstein Teixeira¹.
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)¹
Isabelalins_345@hotmail.com

Resumo

Os peixes representam as classes mais antigas e variadas de vertebrados. O presente trabalho tem como intuito fazer uma referência histórica e expor as principais leis que regem o uso de animais nas práticas de pesquisa no meio acadêmico no Brasil, enfatizando o uso dos peixes, que representa uma pequena parcela de espécies utilizadas no ramo da pesquisa científica. Também explana acerca da eutanásia, identificação de estresse e a importância da criação de métodos alternativos, para que sejam reduzidos o sofrimento e o uso dos peixes.

Palavras chave: bem-estar, ética, experimentação animal, leis, peixes, pesquisa científica.

1. Introdução

Os animais são relatados em procedimentos destinados a pesquisa científica desde a antiguidade. Os gregos foram os primeiros a referenciar e utilizar os animais em dissecações e vivissecções para estudos anatômicos e fisiológicos, com o tempo, essas práticas foram se disseminando por toda a história (FUNCHAL et al., 2014).

Atualmente, a utilização de animais como cobaias tem sido feita para aprimorar o conhecimento acerca dos mecanismos fisiopatológicos, empreender ensaios terapêuticos com novos fármacos, estudar marcadores biológicos com o intuito de aplicação futura em espécie humana e realizar avaliações quantitativas de tóxicos presentes no meio aquático. Grande parte das pesquisas utiliza como modelo experimental os roedores, porém, a partir de 1960, a taxa da utilização de peixes passou a crescer (BOLIS et al., 2001; SCHANAIDER et al., 2004).

2. Justificativas da utilização de peixes como modelo experimental

Os peixes representam as classes mais antigas e mais variadas de vertebrados, compreendendo cerca de 48% das espécies membros conhecidas no subfilo Vertebrata. No geral, os mais utilizados na pesquisa são os de pequeno porte, como o Goldfish (*Carassius auratus*), Paulistinha (Zebrafish, *Danio rerio*), tilápia (*Oreochromis niloticus*) e os Lambaris (*Astyanax fasciatus* e *Astyanax altiparanae*) (GOUVEIA JR et al., 2006; GOMES et al., 2013).

Isso se deve ao fato de que animais de pequeno porte ocupam menos espaço, sendo assim, os animais podem ser mantidos em grupos grandes de forma tranquila. A manutenção desses animais é de baixo custo, quando comparados com os roedores, pois para isso, são necessários poucos equipamentos, que podem ser encontrados facilmente. Peixes também são animais que consomem menos comida quando comparados aos mamíferos, sendo essa alimentação variável desde resíduos até carne, o que reduz o custo com alimentação.

Seu ciclo de vida é rápido, com reprodução contínua, sendo por partenogênese, ovípara ou ovovivípara podendo apresentar cuidado com o filhote ou não. Além disso, com doses baixas de compostos químicos é possível chegar ao efeito que se deseja testar (GOUVEIA JR et al., 2006; SCHANAIDER et al., 2009).

Alguns peixes, em especial o zebrafish, possuem vários processos biológicos que podem ser comparados aos mamíferos: desenvolvimento, organização de órgãos e tecidos, fisiologia, comportamento e genoma, que possui em média 80% de homologia com o humano, constituindo assim, um bom modelo experimental para estudos comportamentais, genéticos, toxicológicos (REIS-PINTO et al., 2012; KUSTER, 2005; SCHANAIDER et al., 2009).

Os tecidos de peixe são tão acessíveis às técnicas de cultura de células como tecidos e órgãos de mamíferos, sendo um vasto recurso para estudo das ciências biomédicas, principalmente no estudo de movimentos intracelular de organelas, metabolismo, estresse térmico etc. Há também desenvolvimento de tumores malignos como resposta a substâncias mutagênicas e espontaneamente, leucemia linfóide, melanoma e hepatocarcinoma. (SILVEIRA et al., 2012; GERLAI et al., 2000; BOLIS et al., 2001).

3. Resoluções éticas para o uso de peixes na experimentação animal

O filósofo Jeremy Bentham, em 1781, foi o primeiro a se preocupar com o bem-estar animal, denotando se eles poderiam ou não sentir dor. O surgimento de várias sociedades protetoras de animais pelo mundo nos anos decorrentes fez com que fosse aprovada a primeira lei referente ao assunto, a British Cruelty to animal act, na Grã-Bretanha, em 1876, que foi seguido pela Austrália em 1883 e nos EUA no ano de 1966.

Mais tarde, Peter Singer, autor do famoso livro Libertação animal, faz referências aos sofrimentos dos animais e aponta que todos os animais devem ter seus direitos preservados. Também a Declaração Universal dos Direitos dos animais, em 1979, fala que a experimentação deve ser condizida sem sofrimento físico ou psicológico para os animais e que devem ser desenvolvidas técnicas substitutivas (FUNCHAL et al., 2014; SINGER, 2004).

No Brasil, não existia uma lei específica referente ao uso de animais na pesquisa. Com a Lei n°. 6.638, de 8 de maio de 1979, o país passou a ter critérios mínimos, como exemplo o uso de anestésicos obrigatório nos procedimentos. Outras leis estaduais foram surgindo no decorrer dos anos, mesmo assim, ainda não havia um órgão que regulasse e fiscalizasse tais leis, e, portanto, grande parte não era cumprida (FUNCHAL et al., 2014).

Somente partir da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, conhecida como lei Arouca, criou-se o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), que é responsável pela normatização do uso de animais de laboratório, incluindo os peixes. Além disso, a lei também diz que a utilização de animais em atividades educacionais deve ficar restrita a estabelecimentos de ensino superior e de educação profissional técnica de nível médio da área biomédica. Também dita regras em relação aos métodos de marcação dos animais, que devem ser isentas de dor, aflição ou danos prolongados e que o tipo de morte deve ser por meios humanitários.

Por meio desta lei, foi criado um credenciamento das instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais denominada de Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs), que, envolvendo médicos veterinários e biólogos visa examinar previamente os procedimentos realizados na instituição à qual esteja vinculada, para determinar sua compatibilidade com a legislação, repassar as informações ao CONCEA e atualizar as informações registradas no Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais (CIUCA) (OLIVEIRA et al., 2013; SCHANAIDER et al., 2004).

Em relação aos peixes, apesar das dificuldades em se encontrar uma definição que conceitue o bem-estar, pode ser utilizado os princípios baseados nas cinco liberdades que foram definidos pelo Conselho Britânico de Bem-estar de Animais Domésticos (VAZ et al., 2007).

As cinco liberdades se baseiam de que os animais devem ser livres de medo e estresse, fome e sede, desconforto ambiental, dor e doenças e ter liberdade de expressar seu comportamento natural. No geral, podem ser verificadas alterações nos peixes que podem indicar situações de estresse, como mudanças na cor; na taxa de ventilação; na natação; redução do apetite e do crescimento; presença de anomalias morfológicas e redução no desempenho reprodutivo (CASTRO, 2013).

Para prevenir eventos que agredam o bem-estar dos peixes, é indicado o enriquecimento ambiental, que pode tornar a manutenção destes animais mais confortáveis, podendo satisfazer aspectos comportamentais, reprodutivos, etc (DELICIO ET AL., 2006; BRYDGES e BRAITHWAITE, 2009).

Com o intuito de seguir as leis vigentes, em 2012, o Conselho Federal de Medicina Veterinária criou o “Guia brasileiro de boas práticas para a eutanásia em animais”. Segundo ele, o método mais aceito para eutanásia de peixes é a imersão, onde doses altas de anestésicos são depositadas na água e absorvidos pelo sistema respiratório dos animais. A decapitação e secção da medula espinhal são apenas aceitas sob restrição, ou seja, somente em último caso. O resfriamento e congelamento utilizados sozinhos não são recomendados, apenas em animais profundamente anestesiados (Conselho Federal de Medicina Veterinária, 2012; CASTRO, 2013).

Com o monitoramento do CONCEA, é necessário fazer o estímulo para criação de métodos alternativos, para que um determinado objetivo seja alcançado sem o uso de animais vertebrados vivos, evitando assim, práticas abusivas e estressantes e seu uso exagerado na pesquisa científica.

4 Referências

BOLIS C.L. et al. Fish as model in pharmacological and biological research. **Pharmacological Research**, 44, 4. 265-280, 2001.

Brasil. Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei n. 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília; 2008; (196); Seção 1:1-4.

Brasil. Decreto n. 6.899, de 16 de julho de 2009. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais – CIUCA, mediante a regulamentação da Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília; 2009; Seção 1.

BRYDGES, N.M. et al. 2009. **Does environmental enrichment affect the behaviour of fish commonly used in laboratory work?** *Applied Animal Behaviour Science* v. 118, p. 137-143

CASTRO, V. L. S. S. de. **Uso de animais de experimentação e legislação correlata: orientações sobre estudos com peixes e roedores**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2013. 27 p. — (Documentos / Embrapa Meio Ambiente; 94).

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA (Brasil). **Guia brasileiro de boas práticas para a eutanásia de animais**. Disponível em: <http://www.cfmv.gov.br/portal/_doc/guiabbp_eutan%C3%A1sia_animal.pdf>. Acesso em: 30 mai. 2017.

CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (Brasil). **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica**. Disponível em: <http://www.mct.gov.br/upd_blob/0239/239139.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2017

DELICIO, H.C. et al. 2006. A place preference test in the fish Nile tilapia. **Journal of Experimental Animal Science** v. 43, p. 141-148.

FUNCHAL, C. S. et al. **Neurociências: modelos experimentais em animais**. Porto Alegre: EdiPUCRS, Editora Universitária Metodista, 2014.

GERLAI, R. et al. “Drinks like a fish: zebrafish (*Danio rerio*) as a behavioral genetic model to study alcohol effects”. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, Vol. 67, no. 4. 2000.

GOMES, C. C. 2015. **Expressão das diferentes formas de GnRH no encéfalo de lambari (*Astyanax altiparanae*)**. Tese (Doutorado) em Biologia Celular e Tecidual - Instituto de Ciências Biomédicas - USP.

GOUVEIA JR, A., Maximino, C. & Brito, T.M. **Comportamento de peixes: Vantagens e utilidades nas neurociências**. Faculdade de Ciências/UNESP. Bauru: SP, 2006.

KUSTER, E. Cholin-and carboxylesterase activities in developing zebrafish embryos (*Daniorerio*) and theirpotential use for insecticide hazard assessment. **Aquatic Toxicology**, v. 75, p. 76-85, 2005.

OLIVEIRA, L. N. et al. A Lei Arouca e o uso de animais em ensino e pesquisa: análise de um grupo de docentes. **Revista BioEthicos**- Centro Universitário São Camilo, v.7, n.2, p. 139-149, 2013.

REIS-PINTO, F. C. et al. Análise Temporal dos Transcritos dos Genes bdnf e ntrk2 em Cérebro de Zebrafish Induzido à Crise Epiléptica por Pentilenotetrazol. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**. UNICAMP, 2012, v. 18, n. 4, p.107-113.

SCHANAIDER A, Silva PC. **Uso de animais em cirurgia experimental**. Acta CirBras [serial online]. V.19, n.4, Jul-Ag2004.

SCHNEIDER, A. C. R. et al. implementação de um novo modelo de experimentação animal – Zebrafish. **Revista HCPA**, 2009, v. 29, n.2, p. 100-103

SILVEIRA, T. R. da; SCHNEIDER, A. C.; HAMMES, T. O. Zebrafish: modelo consagrado para estudos de doenças humanas. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 2, p. 4-5, abr./jun. 2012.

SINGER, P. **Libertação Animal**. Edição revista. Lugano, 2004. 381 p.

VAZ, B. dos S. et al. Aspectos sobre bem-estar em peixes cultivados. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 4, p. 419-422, 2007.

PESQUISA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO STAPHYLOCOCCUS SPP. EM QUEIJO ARTESANAL ELABORADO COM LEITE CAPRINO COMERCIALIZADO NO ESTADO DE PERNAMBUCO

Breno Bezerra Aragão¹; Sabrina Cândido Trajano¹; José Givanildo da Silva¹; Cynthia Maria Moraes de Queiroz Galvão¹; Rinaldo Aparecido Mota¹

¹Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE, Recife, PE, Brasil.

E-mail do primeiro autor: breno.aragao100@hotmail.com

Resumo

A elaboração de queijo artesanal caprino demanda uma série de etapas de manipulação, elevando o risco de contaminação do alimento, comprometendo a qualidade microbiológica e segurança alimentar do produto final. O estudo objetivou quantificar as bactérias do gênero *Staphylococcus* em queijo artesanal elaborado com leite caprino comercializado em estabelecimentos no estado de Pernambuco. O método de análise microbiológica foi de acordo com a Instrução Normativa nº 62/2003. De acordo com a análise houve crescimento de colônias de *Staphylococcus* spp. em 100% das amostras e a contagem variou de $3,0 \times 10^4$ a $5,0 \times 10^6$ UFC/g. Das 14 amostras analisadas, 11 apresentaram valores acima de 10^5 que eleva o risco de intoxicação alimentar. O alto grau de contaminação dos queijos revelou a necessidade de assistência aos produtores e fiscalização dos estabelecimentos comerciais, em decorrência da venda de produtos impróprios para consumo.

Palavras chave: contaminação, microbiologia de alimentos, intoxicação alimentar e segurança alimentar.

1 Introdução

A caprinocultura é uma atividade agropecuária considera uma das mais antigas do Brasil, sendo desenvolvida desde o período de colonização, a mesma possui grande importância na região Nordeste do país, os caprinos são uma espécie adaptada às condições climáticas e ambientais da região (EMBRAPA, 2005). O efetivo brasileiro de caprino, de acordo com o censo realizado em 2015 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) foi de 9,61 milhões de cabeças, tendo ocorrido um aumento de 8,6% em relação a 2014. O estado de Pernambuco se destaca nessa atividade, detendo o segundo maior rebanho do país com aproximadamente 25,3%, ficando atrás somente do estado da Bahia que detém o maior rebanho com 27,4% do rebanho nacional (IBGE, 2015).

Apesar da importância da caprinocultura leiteira na região Nordeste, sua produção ainda possui base familiar e baixo o grau de tecnificação e cuidados higiênico-

sanitários e isto representa risco pelo consumo de leite de cabra e seus derivados, já que podem veicular diversos microrganismos patogênicos com destaque para o gênero *Staphylococcus* que possui importância na epidemiologia das doenças transmitidas por alimentos decorrente do risco de produção de enterotoxinas estafilocócicas (EE), podendo causar gastroenterites alimentares (ZECCONI e HAHN, 2000; CORREIA; MOREIRA; ARAÚJO, 2001).

A ingestão de alimentos contaminados por bactérias do gênero *Staphylococcus* pode causar intoxicação alimentar em decorrência da ingestão de enterotoxinas pré-formadas no alimento e a contaminação pode ocorrer por falhas na manipulação, armazenamento, condições inadequadas na elaboração e obtenção do leite onde muitas vezes o produto final é fabricado sem os cuidados básicos de higiene (LEBEAU, 1994).

Apesar da importância econômica, social e cultural da caprinocultura no estado de Pernambuco, poucos estudos foram realizados em queijos artesanais produzidos com leite de cabra, sendo importante a pesquisa de bactérias do gênero *Staphylococcus* em queijos artesanais já que número elevado desta bactéria aumenta o risco de infecção alimentar (SEO e BOHACH, 2007).

Objetivou-se pesquisar bactérias do gênero *Staphylococcus* em queijo artesanal elaborado de cabras comercializado em diferentes estabelecimentos comerciais no estado de Pernambuco.

2 Material e Métodos

A amostragem foi realizada utilizando o método não probabilístico por conveniência (SAMPAIO, 1998). Foram coletadas 14 amostras de queijo de cabra, sendo uma por estabelecimento em cinco municípios localizados no Sertão, Agreste e Zona da Mata de Pernambuco. Foram coletadas três amostras no município A, três no município B, cinco no município C, uma no município D e duas no município E.

Os queijos foram adquiridos nos estabelecimentos comerciais. Cada amostra pesava aproximadamente 500g e após adquiridas foram armazenadas em sacos tipo *ziplock*® esterilizados e previamente identificados, sendo acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e transportadas imediatamente ao Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco onde foram realizadas as análises microbiológicas.

Para a pesquisa de *Staphylococcus* spp. foram pesados 25 gramas de diferentes partes de cada amostra de queijo. As alíquotas foram transferidas para sacos tipo *ziplock*® esterilizados, contendo 225mL de solução salina a 0,85%. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas por 60 segundos em Stomacher® e a partir desta solução foi feita a diluição seriada até 10^{-5} (BRASIL, 2003).

A partir das diluições realizadas foram retiradas alíquotas 0,1mL e inoculadas com o auxílio da alça de Drigalski em ágar Baird-Parker (BD, Franklin Lanes, Estados Unidos) enriquecido com emulsão de gema de ovo e telurito de potássio (Himedia). As placas foram incubadas a 35-37°C por 48 horas (BRASIL, 2003). Após o crescimento foi realizada a leitura das placas e os resultados expressos em Unidade Formadora de Colônia (UFC/mL) e realizada a prova de coloração de Gram de acordo com Stingen et al. (2002) para caracterização morfológica das colônias de *Staphylococcus* spp.

3 Resultados e Discussão

Após a incubação a 37°C por 48 horas observou-se crescimento de colônias características de *Staphylococcus* spp. em ágar Baird Parker em 100% das amostras analisadas. A contagem média de *Staphylococcus* variou de $3,0 \times 10^4$ a $5,0 \times 10^6$ UFC/g (Tab. 1). A contaminação elevada dos queijos por esse gênero deve-se à alta frequência desse microrganismo como agente etiológico da mastite caprina (DA SILVA et al., 1996), além das práticas inadequadas de obtenção do leite, baixo nível socioeconômico dos ordenhadores que podem ser portadores assintomáticos desta bactéria e muitas vezes não possuem hábitos de higiene o que aumenta a disseminação do agente no rebanho e no leite e seus derivados (VILELA et al., 2001).

A variação do número de UFC/g pode estar relacionada aos diferentes níveis sanitários de elaboração e manipulação do queijo; sistema de manejo e produção dos animais; condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos de comercialização do produto como também sua manipulação e higiene dos utensílios e local de armazenamento. Estes fatores podem aumentar ou diminuir o grau de contaminação de *Staphylococcus* spp. no produto.

Altos níveis de contaminação em derivados lácteos são responsáveis por perdas econômicas como também impactam a Saúde Pública, já que eleva o risco de causar doenças transmitidas por alimentos (TORTORA, 1995; VILELA et al., 2001; FEITOSA et al. 2003).

Municípios	Estabelecimentos	UFC/g
A	1	$5,0 \times 10^6$
	2	$4,0 \times 10^6$
	3	$8,0 \times 10^5$
	4	$5,0 \times 10^5$
B	5	$9,0 \times 10^5$
	6	$1,0 \times 10^5$
	7	$4,8 \times 10^4$
C	8	$2,7 \times 10^6$
	9	$1,9 \times 10^5$
	10	$9,0 \times 10^4$
	11	$3,0 \times 10^5$
D	12	$3,0 \times 10^5$
E	13	$1,3 \times 10^6$
	14	$3,0 \times 10^4$

Tabela 1. Contagens de UFC/g em ágar Baird-Parker e *Staphylococcus* spp. nos diferentes municípios e estabelecimentos do estado de Pernambuco.

Os resultados apresentados na análise microbiológica das amostras de queijo demonstradas na Tabela 1 revelam que todas as amostras estão fora dos padrões microbiológicos vigentes, não atendendo aos critérios de 5×10^2 para queijos tipo coalho regulamentada pela Resolução-RDC nº12 (BRASIL, 2001). Os níveis de contaminação pelo gênero *Staphylococcus* spp. indica que o alimento analisado pode ser classificado de alto risco à saúde, pois 11 das 14 amostras tiveram valores igual ou superior a 10^5 UFC/g (FURLANETTO; CERQUEIRA-CAMPOS; IARIA, 1983).

Os valores citados na tabela demonstram um alto grau de contaminação, o que eleva o risco dos consumidores a uma possível intoxicação alimentar, caso esses *Staphylococcus* spp., isolados possuam genes codificadores de enterotoxinas e os expressem. Os valores de 10^5 UFC/g de *Staphylococcus* spp. em alimentos podem conter quantidade de enterotoxina suficiente para causar doenças (SEO e BOHACH, 2007).

A qualidade de queijos artesanais está ligada diretamente à qualidade do leite, este deve vir de animais saudáveis, utilizando as boas práticas de obtenção na ordenha como também na elaboração do produto e em seu armazenamento (DE BUYSER et al., 1987).

4 Considerações

O alto grau de contaminação dos queijos de cabras analisados por bactérias do gênero *Staphylococcus* revela a necessidade de assistência veterinária aos produtores de queijo caprino, além de auditorias e fiscalização dos órgãos competentes nos estabelecimentos que comercializam este alimento no estado. Os dados obtidos neste estudo demonstram, ainda, que este alimento está impróprio para consumo, havendo a necessidade de ações para a melhoria das condições de elaboração do produto como garantir as exigências higiênico-sanitárias previstas para os estabelecimentos que comercializam o queijo de cabra nesta região.

5 Referências

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 05/06/2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução-RDC nº12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acessado em: 05/06/2017.
- DA SILVA, E.R., et al. Contagem de células somáticas e California Mastitis Test no diagnóstico da mastite caprina subclínica. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v. 18, p.78-83, 1996.

DE BUYSERM, L., et al. Enterotoxin and toxic shock syndrome toxin-1 production by staphylococci isolated from goat's milk. **International Journal of Food Microbiology**, v.5, p.301-309, 1987.

CORREIA, R. C.; MOREIRA, J.N.; ARAÚJO, J.L.P. Cadeia produtiva de caprinos ovinos do vale do rio Gavião: elementos para tomada de decisão. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido; Salvador: CAR, 39p. 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Sistema de Produção de Caprinos e Ovinos de Corte para o Nordeste Brasileiro* (2005). Disponível em <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/CaprinoseOvinosdeCorte/CaprinosOvinosCorteNEBrasil/>>. Acesso em 05/06/17.

FEITOSA, T., et al. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, p.162-165. 2003

FURLANETTO, S.M.P.; CERQUEIRA-CAMPOS, M.L.; IARIA, S.T. Pesquisa de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringense* e *Salmonella* em queijo fresco, vendido em supermercados do município de São Paulo. In: Congresso Latino Americano de Microbiologia, 9.º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 12.º, São Paulo, 1983. *Programa-Resumos*. São Paulo. p. 144, 1983.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção da Pecuária Municipal. vol. 43, p.23, 2015. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf>. Acesso em 05/06/17.

LEBEAU et al. Coagulase expression in *Staphylococcus aureus* is positively and negatively modulation by an agar-dependent mechanism. **Journal of Bacteriology**, v.176, p.5534-5536. 1994.

SAMPAIO, I.B.M. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: **Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia**, 221p. 1998.

SEO, K.S. e BOHACH, G. A. *Staphylococcus aureus*. In: Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. Doyle M, Beuchat L (eds.). Washington, DC: ASM Press, , pp. 493–519, 2007.

STINGHEN, A. E. M.; ALBINI C. A.; SOUZA, H. A. P. H. M. Coloração de Gram: Como fazer, Interpretar e Padronizar. Curitiba: **Microscience**, 2002, 70 p.

TORTORA, G. Microbiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., New York, USA, p. 274-278, 1995.

VILELA, M. A. P., et al. Queijo “Minas Frescal” Comercializado na Cidade de Juiz de Fora e Região II – Incidência de Estafilococos Produtores de Coagulase. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 57, n.326, Maio/Jun. 2002.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, v.345, p.15-18, 2000.

POTENCIAL BIOLÓGICO DOS EXTRATOS OBTIDOS DE *CAESALPINIA PULCHERRIMA*: DO USO ETNOFARMACOLÓGICO À EXPERIMENTAÇÃO CIENTÍFICA

**Lethícia Maria de Souza Aguiar¹, Bárbara Rafaela da Silva Barros¹,
Gustavo Miguel da Silva Moraes¹, Leylianne de Cássia Rodrigues Nerys²,
Cláudia Sampaio de Andrade Lima², Cristiane Moutinho Lagos de Melo¹**

1 Laboratório de Análises Imunológicas e Antitumorais (LAIA) do Departamento
de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE;

2 Laboratório de Biofísica Química do Departamento de Biofísica da
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

lethiciamaria16@gmail.com

RESUMO

As plantas medicinais apresentam uma vasta aplicabilidade na indústria farmacêutica. São usadas ainda na nutrição e gastronomia, como é o caso das ervas, e ainda na cosmetologia. O gênero *Caesalpinia* possui cerca de 6 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia, Austrália, Américas e Caribe. As espécies apresentam inúmeras atividades biológicas, como por exemplo, as atividades antimicrobiana, anticonvulsivante e antioxidante. Este estudo objetiva demonstrar, através de uma revisão de literatura, as principais atividades biológicas observadas pelo gênero *Caesalpinia*, correlacionando o seu uso etnofarmacológico às comprovações experimentais realizadas até o momento. Além disso, os resultados preliminares da caracterização fitoquímica do extrato salino de *Caesalpinia pulcherrima*, realizados por nosso grupo de pesquisa, também estão apresentados nesse resumo.

Palavras-chave: *Caesalpinia pulcherrima*, extratos, atividades biológicas, plantas medicinais.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Caesalpinia* se destaca por suas plantas apresentarem um enorme potencial medicinal (Santos et al., 2013; Silva et al., 2015). Um estudo com ênfase na região nordeste do Brasil revelou 126 espécies verificadas como plantas medicinais, em que, fora observado que 6 dessas espécies são pertencentes ao gênero *Caesalpinia*, no qual, as mais conhecidas pela população eram as espécies *Caesalpinia pyramidalis*, *Caesalpinia férrea*, *Caesalpinia pulcherrima* (Agra et al., 2008; Silva, et al., 2015). Segundo Novais, et al. 2003 há estudos sobre este gênero que comprovam atividade antibacteriana (Saeed et al., 2002; Woldemichael et al., 2003) e antifúngica (Woldemichael et al., 2003) de algumas espécies do mesmo, fora constatado efeito anticonvulsivo com estudos por Kumar et al. 2009 (Figueiredo, J. R., Sáber, M. L., 2016). *Caesalpinia pulcherrima* é uma espécie que tem origem da Índia (Figueiredo e

Sáber, 2016) e da América Central (Lorenzi, 2008), amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia, Austrália, América e Caribe (Erharuyi et al., 2016), é comumente encontrada no Brasil conhecida popularmente como flamboyanzinho ou barba-de-barata. Esta espécie apresenta importantes propriedades biológicas, dando ênfase na presença de alguns metabólitos secundários de âmbito medicinal como taninos, glicosídeos, flavonoides, diterpenos (Figueiredo e Sáber, 2016). Dessa forma, o objetivo da escolha das presentes referências citadas foi em prol de serem estudos atuais, com conteúdo bem informado e explicado não só sobre os métodos biotecnológicos utilizados, mas do experimento em si, além de obter resultados coerentes que puderam ser discutidos e colocados no presente trabalho.

2 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DOS DIVERSOS ÓRGÃOS DE *C. PULCHERRIMA*

Chanda et. al., 2010, realizaram o estudo fitoquímico de *C. pulcherrima* a partir dos extratos hexano, clorofórmio, acetona, metanol e aquoso das sementes e casca do fruto, em que cada extrato obteve uma particularidade de constituintes para cada parte da planta. Foram observados a presença de taninos, flavonoides, triterpenos, glicosídeos cardíacos, alcaloides, saponinas, alcaloides e esteroides e proantocianidinas, relatando assim um melhor resultado do extrato metanólico em ambas as partes da planta. Segundo Chew et. al., 2011 constatou a presença de alguns constituintes químicos do extrato metanol aquoso e diclorometano:metanol das folhas e flores de *C. pulcherrima*, mostrando presença de taninos, terpenoides, flavonoides e esteroides, com ausência de saponinas e alcaloides. De acordo com os estudos de Kumbhare et. al., 2012, mostraram que o extrato de éter de petróleo das raízes de *C. pulcherrima* apresentaram a presença de esteroides e triterpenos, já o extrato metanólico constatou glicosídeos, flavonoides e taninos e o extrato clorofórmio mostrou apenas triterpenos. Sivasankari et. al., 2010 fizeram o estudo fitoquímico a partir dos extratos de éter de petróleo, metanol, clorofórmio e aquoso das folhas de *C. pulcherrima* apresentando a presença de carboidratos, quinonas, terpenoides e betacianinas em todos os extratos testados. Além disso, para o extrato de clorofórmio foram encontrados saponinas, glicosídeos, proteínas, aminoácidos, flavonoides, fenóis, taninos. Para o extrato metanólico, tem-se taninos, alcaloides, glicosídeos. Para o extrato éter de petróleo encontraram antraquinona, glicosídeos, alcaloides, flavonoides, fenóis. E para o extrato aquoso, teve presença de cumarina, taninos, fenóis e glicosídeos. Pulipati et. al., 2012 efetuaram testes fitoquímicos das flores frescas e secas de *C. pulcherrima* com os extratos n-hexano, clorofórmio, acetona, etanol, metanol e aquoso, obtendo os seguintes resultados: para os extratos de flores frescas, o n-hexano não teve presença de nenhum dos constituintes químicos testados, e o etanólico detectou compostos como os carboidratos, aminoácidos, esteroides; para os extratos de flores secas, o que detectou mais constituintes foi o n-hexano (alcaloides, carboidratos, proteínas, flavonoides e taninos) e o extrato aquoso (glicosídeos, carboidratos, proteínas, esteroides e taninos).

3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O sistema biológico natural tem a produção de radicais livres a partir do processo de oxidação que ocorre espontaneamente (Barreiros et. al., 2006; Sá et. al., 2012), em suma, esses radicais exercem importantes funções no organismo atuando na transferência de elétrons nas diversas reações bioquímicas (Persson et al., 2004; Campos & Frasson, 2011). Os radicais livres apresentam a propriedade de serem altamente instáveis, para reverter essa situação, necessitam de capturar elétrons de outras moléculas, lhes atribuindo a particularidade de serem agentes redutores ou oxidantes (Ferreira & Matsubara, 1997; Campos & Frasson, 2011). O excesso desses compostos infere em uma gama de efeitos prejudiciais ao organismo, provocando várias doenças, tais como as degenerativas e neurológicas (Alves et. al., 2010; Barreiros et. al., 2006; Ratheet et al., 2006; Sá et. al., 2012). Entretanto, esses radicais livres são combatidos por compostos antioxidantes existentes no próprio organismo, ou podem ser ingeridos na dieta alimentar, em que, os mais apontados para combatê-los são os compostos fenólicos e flavonoides (Barreiros et al., 2006; Soares, 2002; Sá et. al., 2012). Segundo Chew et. al., 2011, o extrato metanólico das folhas de *C. pulcherrima* mostrou um alto teor de fenóis totais com 5030 ± 602 mg de GAE / 100g, e uma moderada capacidade de eliminar radicais livres (DPPH) com IC₅₀ de $50,0 \pm 5,0$ µg / mL. Krishnaveniet al. 2014 constatou a partir de extrato aquoso de folhas frescas de *C. pulcherrima* baixo teor de flavonoide e de fenóis totais, com uma moderada atividade do fosfomolibdenio, e baixo óxido nítrico, esse com 1,82 mg/g. Por sua vez, Chanda et. al., 2010 realizou testes para constatar a atividade antioxidante dos extratos n-hexano, clorofórmio, acetona, metanol e aquoso das sementes e casca do fruto de *C. pulcherrima*, que no geral fora observado um maior conteúdo de fenóis totais que flavonoidal, além disso, tanto o conteúdo fenólico, quanto o flavonoidal fora mais presente na casca do fruto quando comparado com as sementes. Com relação aos extratos, para fenóis, se observou os extratos de metanol e acetona mais eficaz para esse tipo de composto, já para flavonoide o melhor extrato foi o de clorofórmio. Para o teste de eliminação de radicais livres DPPH, assim como de conteúdo fenólico, obtiveram maiores resultados para as cascas do fruto que a semente, enquanto que os melhores extratos tanto para casca quanto para a semente foram o extrato de metanol que obteve IC₅₀ de 15 µg/mL, e o extrato de acetona com IC₅₀ DE 14 µg/mL, atribuídos como valores melhores que o padrão de ácido ascórbico utilizado para comparação. Estudos feitos por Kumbhare et. al., 2012, testaram extratos de éter de petróleo, clorofórmio e metanol das vagens de *Caesalpinia pulcherrima*, e observaram que quanto maior a concentração do extrato ocorre a maior a eliminação de radicais livres (DPPH). Os resultados obtidos foram comparados ao padrão ácido ascórbico com IC₅₀ de 13.86 µg/mL, enquanto que o extrato de metanol obteve 64.51 µg/mL, o extrato de clorofórmio 102.88 µg/mL, e o extrato de éter de petróleo 144.58 µg/mL, observando um melhor resultado para o extrato de metanol.

4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os vegetais estão sendo cada vez mais o centro das pesquisas científicas com intuito de usá-los no combate de determinadas doenças. Um dos testes mais realizados é a atividade antimicrobiana (Machado et. al., 2003; Michelin et. al., 2005), pois, estão surgindo microrganismos patogênicos cada vez mais resistentes a diversas infecções (Penna et. al., 2001; Ostrosky et. al., 2008). A tabela 1 ilustra as atividades antimicrobianas desenvolvidas com os diversos órgãos da *Caesalpinia pulcherrima*.

ÓRGÃOS	TIPO DE EXTRATO	MICRORGANISMOS	REFERÊNCIAS
Raiz	Metanólico	<i>Klebsilla pneumonia</i>	Prakash et. al. (2009)
Flores	Etanólico	<i>Escherichia coli</i> <i>Bacillussubtilis</i>	Dhaked et. al. (2011)
	Aquoso	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	N-hexânico Clorofórmio Acetona Metanólico Etanólico	<i>Bacillussubtilis</i> , <i>Enterococcusfaecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonasaeruginosae</i> <i>Klebsiellapneumoniae</i>	Pulipati et. al. (2012)
Flores		<i>Bacillussubtilie</i>	
	Aquoso	<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	
Flores, Folhas, Vagens	Etanólico	<i>Enterobacteraerogenes</i> (ATCC 13048) <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (ATCC 27853)	Figueiredo et. al. (2016)

Tabela 1: Tabela com as principais atividades antimicrobianas dos diversos órgãos de *Caesalpinia pulcherrima* relatadas na literatura.

5 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO SALINO DE *C. PULCHERRIMA*

Testes fitoquímicos qualitativos foram realizados com o extrato salino (NaCl a 0,15 M) das folhas de *Caesalpinia pulcherrima* para investigar os principais metabólitos secundários do extrato. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 2. A presença de flavonoides e fenóis no extrato salino de *C. Pulcherrima* entrou em corroboração como o observado nos extratos metanólico, aquoso e clorofórmio previamente investigados da planta (Chew et. al., 2010; Sivasankari et. al., 2010). A presença de saponina no extrato salino também foi observada nos extratos metanólico, aquoso (Sivasankari et. al., 2010), mas não no extrato clorofórmio (Chew et. al., 2011). Além disso, não foi observada a presença de taninos no extrato salino de *Caesalpinia pulcherrima*, resultado que também foi observado nos extratos metanólico, aquoso e clorofórmio obtidos por Sivasankari et. al. (2010) e Chew et. al. (2011).

Saponinas	Taninos		Fenóis	Flavonóides	Antocianinas e Antocianidinas	Flavonas, Flavonóides e Xantonas	Chalconas e Auronas
	Hidrolisados	Condensados					
+	-	-	+	+	-	+	-

Tabela 2: Caracterização fitoquímica do extrato salino das folhas de *C. pulcherrima*.

6 AGRADECIMENTOS E APOIO

Agradecemos ao apoio dos laboratórios de Glicoproteínas, de Atividades Imunológicas e Antitumorais, de Bioquímica de Proteínas e de Biofísica nos quais realizamos os nossos experimentos.

7 REFERENCIAS

- AGRA, M. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 8(3), 2008.
- ALVES C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quim Nova**. 33(10):2202-10, 2010.
- BARREIROS A. L. B. S.; David J. M.; David J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim Nova**., 29(1):113-23, 2006.
- CAMPOS, J.S.; FRASSON, A.P.Z.Avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso de *Lafoensia pacari* A. ST-HIL. em emulsão não-iônica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**,32(3):363-368, 2011.
- CHANDA S., et. al. Antimicrobial and antioxidant efficacy of various solvent extracts of seeds and fruits rind of *Caesalpinia pulcherrima* Swartz. **Archives of clinical microbiology**, Vol.1 No. 4:5, 2010.
- CHEW Y. L., et. al. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 11:12, 2011.
- DHAKED P. S. et. al. Antimicrobial Activity of Ethanolic and Aqueous Extract of *Caesalpinia pulcherrima* Flowers. **IJPSR**, Vol. 2(10), 2011.
- ERHARUYI, O. et al. Cytotoxic, Anti-inflammatory, and Leishmanicidal Activities of Diterpenes Isolated from the Roots of *Caesalpinia pulcherrima*. **Cytotoxic, Anti-inflammatory, and... Planta Med**. 2016.
- FERREIRA ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Bras.**, 43(1):61-9, 1997.
- FIGUEIREDO, J. R., SÁBER, M. L. Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Caesalpinia pulcherrima*. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, Vol. 8 (2), 853-860, 2016.

KRISHNAVENI M. Antioxidant Activity of Selected Plants. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, Vol 6, Suppl 2, 2014.

KUMAR D., et. al. Anticonvulsant effect of the ethanol extract of *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw., **Fabaceae**, leaves. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 20(5): 751-755, Out./Nov. 2010.

KUMBHARE M. R., et. al. In vitro Antioxidant Activity, Phytochemical Screening, Cytotoxicity and Total Phenolic Content in Extracts of *Caesalpinia pulcherrima* (Caesalpinaceae). **Pods. Pakistan Journal of Biological Sciences** 15 (7): 325-332, 2012.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. **Nova Odesa: Plantarum**, 1088, 2008.

MACHADO T. B. et al. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Int J Antimicrob**, Ag 21: 279-284, 2003.

MICHELIN D. C. et. al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15(4): 316-320, Out./Dez. 2005.

NOVAIS, T. S. et al. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista brasileira de farmacognosia**. v. 13, supl 2. p. 05-08, 2003.

OSTROSKY E. A. et. al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18(2): 301-307, Abr./Jun. 2008.

PENNA C. et al. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **J Ethnopharmacol** 77: 37-40, 2001.

PERSSONELLE JG. Cosmiatria, a ciência da beleza. São Paulo: Revinter; 2004. 244p.

PRAKASH S. B. et. al. Antibacterial Activity of Methanolic Extract of Root of *Caesalpinia pulcherrima*. **Int. J. Chem. Sci.**: 7(1), 16-18, 2009.

PULIPATI S. et. al. Evaluation of antibacterial Activity of Fresh and dry Flower Extracts of *Caesalpinia pulcherrima* L. **International Journal of Biological & Pharmaceutical Research**. 3(3): 360-365, 2012.

RATHEE J. S, Hassarajani S. A, Chattopadhyay S. Antioxidant activity of *Mammea longifolia* bud extracts. **Food Chemistry**. 99(3):436-43, 2006.

SÁ P. G. S. et. al. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 33(4):561-566, 2012.

SAEED M.A., SABIR A.W. Antibacterial activity of *Caesalpinia bonducella* seeds. **Fitoterapia**, v.72, n.7, p.807-809, 2002.

SANTOS, M. L. O., SIQUEIRA, W. N., SÁ, J. L. F., SILVA, L. R. S., CABRAL, D. L. V, AMÂNCIO, F. F. & MELO, A. M. M. A. Estudo do efeito radioprotetor do extrato metanólico de *Caesalpinia pyramidalis* sobre células embrionárias de *Bomphalaria glabrata*. **Scientia Plena**, 9(2): 15-20, 2013.

SILVA et al. Potencial citotóxico, genotóxico e citoprotetor de extratos aquosos de

Caesalpinia pyramidalis Tul., *Caesalpinia ferrea* Mart. e *Caesalpinia pulcherrima* Sw. **R. bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 13, n. 2, p. 101-109, abr./jun. 2015.

SIVASANKARI K. et.al. Evaluation of phytochemicals in select medicinal plants of the *Caesalpinia* species. **Indian Journal of Science and Technology**, Vol. 3 No. 12, 2010.

SOARES SE. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev Nutr.**, 15(1):71-81, 2002.

WOLDEMICHAEL G. M. et al. Constituents of antibacterial extracts of *Caesalpinia paraguayensis* Burk. **Z Naturforsch.**, v.58, n.1-2, p.70-75, 2003.

PROPOSTA DE MODELO DIDÁTICO PARA AULA PRÁTICA DE FISIOLOGIA DO SISTEMA ENDÓCRINO ANIMAL

João Carlos Farias Santana da Silva¹; Camila Alcântara Pereira da Silva¹; Daniela Braz Ribeiro¹; Cláudio Barboza de Andrade²; Valdir Luna da Silva¹

¹ Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

² Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
jcarlosfss2014@gmail.com

Resumo

O sistema endócrino regula atividades metabólicas indispensáveis para a vida dos animais, além de atividades como afetividade, bem-estar e socialização. Sendo assim é importante que no ensino básico os estudantes tenham a oportunidade de conhecer as funções dos hormônios bem como sua síntese, transporte e regulação. Para isso diferentes estratégias que possam vir a facilitar a compreensão e envolvimento dos estudantes com o conteúdo é de suma importância. No presente trabalho foi proposto a utilização da massa de modelar como recurso didático, por ser um material de fácil aquisição e manuseio tanto pelo aluno quanto pelo professor. É esperado que o material auxilie professores na transmissão de conteúdos sobre fisiologia do sistema endócrino além de possibilitar novas ideias para outros conteúdos e que os estudantes possam desenvolver mais a capacidade de participação em sala de aula.

Palavras-chave: hormônios, didática, fisiologia, endocrinologia.

1 Introdução

Os organismos estão suscetíveis a constantes modificações químicas e físicas, resultante de dentro ou de fora do organismo, sendo sua função a capacidade de responder de forma apropriada e coordenada. Entre os sistemas fisiológicos animais responsáveis pela regulação das atividades metabólicas, o sistema endócrino age através de mensageiros químicos denominados hormônios, que são geralmente secretados por glândulas endócrinas.

Os hormônios podem ser classificados quanto a sua solubilidade em lipossolúveis, necessitando de transportadores plasmáticos, e hidrossolúveis, que se solubilizam facilmente que podem circular livremente na corrente sanguínea. Na célula-alvo se ligam a receptores de membranas (Figura 1). Os hormônios lipossolúveis, atravessam a membrana celular e ligam-se a receptores nucleares ou do citoplasma (Figura 1). O complexo hormônio-receptor entra no núcleo e liga-se a sítios específicos nas células alvo do DNA. A união dos complexos receptor-hormônio a locais específicos do DNA geralmente ativa genes próximos, porém algumas vezes o efeito é inibidor, ou seja, a formação de mRNA por esses genes em geral é estimulada, porém também podem ser inibidas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2015).

Os hormônios proteicos são sintetizados inicialmente como pré-pró-hormônios e então clivados no retículo endoplasmático rugoso (RER) para formar pró-hormônios, e no aparelho de Golgi para formar os hormônios ativos, os quais são armazenados em grânulos antes de serem liberados por exocitose (CUNNINGHAM, 2004). Os hormônios esteroides são sintetizados no fígado a partir de moléculas de colesterol e são liberados após sua síntese, uma vez que não são armazenados. A 1ª etapa é a clivagem da cadeia lateral do colesterol para formar a Pregnenolona (etapa ocorre dentro da mitocôndria). Ocorrem fases específicas para cada tipo de hormônio, utilizando enzimas específicas. Mas há a transferência da Pregnenolona para o RER e deste de volta para a mitocôndria e assim é liberada para o exterior (CUNNINGHAM, 2004).

As etapas da comunicação celular ocorrem mediante a liberação da molécula sinalizadora a partir da célula sinalizadora, em seguida a molécula é transportada até a célula-alvo, que por meio de receptores específicos identifica o sinal e após a entrada da molécula na célula ocorre diversos processos para desencadear a resposta celular pelo complexo sinal-receptor. A comunicação hormonal é um processo relativamente lento, porque os hormônios levam algum tempo para se distribuírem pelo corpo, carregados pela corrente sanguínea até a célula-alvo, conhecida por comunicação endócrina (Figura 2 D) (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2015). A difusão da mensagem ocorre através do fluido intersticial, atuando nas proximidades do local de secreção sendo a comunicação parácrina (Figura 2 C), às vezes, a mensagem afeta a célula que a secreta denominada autócrina (Figura 2 B). Quando a mensagem viaja uma curta distância de um neurônio a célula-alvo refere-se à comunicação neurócrina (Figura 2 A) (SWENSON e REECE, 1996).

Após a síntese, transporte e resposta celular pela célula-alvo, os sistemas de controles são regulados pelo menos em parte, por *feedback*. Em concentrações maiores de hormônios respostas inibitórias são desencadeadas com a finalidade de reduzir a concentração hormonal, possibilitando que concentração varie de maneira constante.

2 Materiais e Métodos

Para a execução do projeto deve ser utilizado massa de modelar de diversas cores, para a construção das células sinalizadoras, células-alvo, as moléculas sinalizadoras e os receptores. Esse recurso pode ser aplicado em aulas práticas quando o tema fisiologia do sistema endócrino for abordado.

Os alunos irão desenvolver os componentes referentes a proposta sob orientação do professor, que por sua vez deverá explicar detalhadamente como os alunos utilizarão a massa de modelar, para isso livros poderão ser consultados, bem como o Datashow expondo imagens do que está sendo proposto aos alunos.

3 Resultados e Discussão

O ensino de biologia muitas vezes necessita de infraestruturas como laboratórios, isso não reflete a realidade das escolas do país, como alternativa os professores utilizam os modelos didáticos, sendo esses importantes para o

desenvolvimento cognitivo dos alunos, tornando-se um recurso capaz de aguçar a criatividade, testar os conhecimentos adquiridos no decorrer das aulas teóricas, estimular a comunicação e expressão entre os alunos como também amplia o campo de aprendizado destes.

Segundo KRASILCIK (2004) os modelos didáticos são um dos recursos mais empregados nas aulas de biologia para demonstrar objetos em três dimensões. Mas que eles podem apresentar alguns percalços, como fazer com que os estudantes entendam que os modelos são simplificações do objeto real ou fases de um processo dinâmico.

A abordagem do ensino de síntese, regulação e transporte de hormônios através da utilização de atividades lúdicas por intermédio de massa de modelar, busca propor novas estratégias de intervenção sobre o conteúdo abordado. Tendo em vista que o desinteresse é atribuído ou ao professor com sua didática e seus métodos, ou ao aluno por não ser capaz de compreender além do momento presente, por não se importar com o amanhã, com o futuro (ARRAES, 2009 *apud* KLAUBERG, 2015). É esperado que os alunos compreendam o assunto aplicado em sala de aula através do modelo didático, tornando-o facilitador do conteúdo exposto na aula.

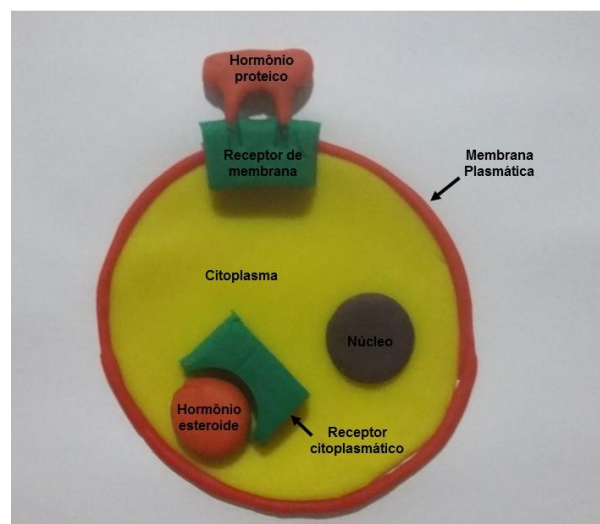


Figura 2:Receptores de hormônios.

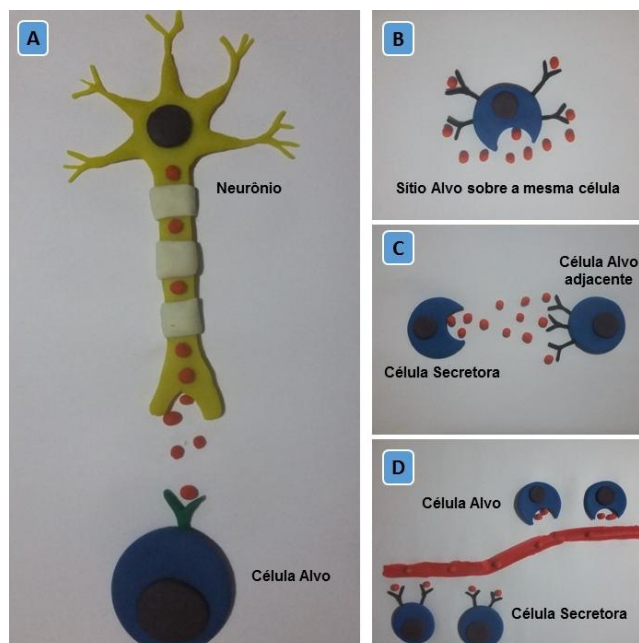


Figura 3: Comunicação celular. A: comunicação neurócrina; B: comunicação autócrina; C: comunicação parácrina e D: comunicação endócrina.

4 Conclusão

Com esse trabalho é possível evidenciar uma nova estratégia de ensino de fisiologia do sistema endócrino animal, com a finalidade de tornar as aulas divertidas, buscando assim o progresso dos alunos em aspectos como criatividade e motivação no processo de ensino e aprendizagem. A utilização de materiais didáticos como o proposto nesse trabalho é um meio viável onde o professor pode utilizá-lo para auxiliar em sala de aula, de maneira lúdica, prazerosa e participativa proporcionando ao estudante a melhor relação com os conhecimentos envolvidos. Para assimilar ensino de síntese, regulação e transporte de hormônios demarcamos que o uso de modelos didáticos em suas práticas, tais recursos com fundamentação lúdica podem ser fortes aliados em sala de aula, os modelos favorecem a visualização e concretização de estruturas, já os jogos favorecem o convívio em grupo e raciocínio lógico.

5 Referências

- CUNNINGHAM J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3^a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 9^a. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
- KLAUBERG, S. D. W.; PRADO, K. B. **O lúdico no Ensino de Biologia: Uso de um modelo didático para ensino da divisão celular mitótica**. Monografia, Universidade Federal do Paraná, Londrina. 2015.

KRASILCHICK, M. **Práticas do ensino de biologia**. 4^a. ed. São Paulo: EDUSP, 2004. 200p.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11^a. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. v. 1.

PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DA *MALPIGHIA EMARGINATA*: CARACTERIZAÇÃO INICIAL DO EXTRATO SALINO

**Bárbara Rafaela da Silva Barros¹, Leylianne de Cássia Rodrigues Nerys²,
Cláudia Sampaio de Andrade Lima², Bruno Rafael Barboza¹, Gustavo
Miguel da Silva Moraes¹, Cristiane Moutinho Lagos de Melo¹**

1 Laboratório de Análises Imunológicas e Antitumorais (LAIA) do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE;

2 Laboratório de Biofísica Química do Departamento de Biofísica da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

E-mail: barbararsbarros@gmail.com

RESUMO

A acerola é uma arbustiva da família Malpighiaceae, comercializada no mundo inteiro. Muitas propriedades da *Malpighia emarginata* são estudadas hoje, devido a gama de atividades que a planta apresenta. A acerola é apontada como um dos frutos com maior potencial antioxidante, sendo bastante utilizada há muitos anos na medicina popular. Hoje sabe-se que a acerola além de antioxidante, também apresenta atividades importantes na medicina tradicional, como potencial antimicrobiano e antitumoral. Não obstante, também há relatos científicos sobre a ação anti-hipertensiva, lipolítica e redutora de proteínas inflamatórias como as TNF- α , através de extratos. Esse trabalho propõe uma revisão de estudos realizados utilizando extrato de órgãos da planta expondo alguns ensaios realizados por nossa equipe de pesquisa, com o extrato salino das folhas da *Malpighia emarginata*. Os atuais ensaios demonstram que o extrato salino das folhas da acerola produzem metabólitos secundários que são indicadores das atividades citadas anteriormente.

Palavras-chave: *Malpighia emarginata*, extratos, atividades biológicas, plantas medicinais.

1 INTRODUÇÃO

Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) é uma fruta encontrada em toda a América Central e no norte da América do Sul. Trata-se de uma fruta de origem tropical, proveniente da região do Caribe, onde é conhecida como cereja das Antilhas. Segundo Freitas et al., (2006), o Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador de acerola do mundo. Praticamente em todos os Estados brasileiros, existem plantios comerciais. Contudo, é na região nordestina, por suas condições de solo e clima, onde a acerola melhor se adapta. Devido às altas concentrações de ácido ascórbico na parte comestível, a acerola é considerada uma das melhores fontes naturais de vitamina C (Vendramini et al., 2000).

Contudo, além desta vitamina, outros componentes bioativos, como polifenóis, fazem parte da composição deste fruto. Tais compostos, por possuírem propriedade antioxidante, atuam minimizando os danos oxidativos causados no organismo pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, prevenindo de doenças crônicas não transmissíveis, como câncer (Jacob, et al., 1996), hipertensão, arteriosclerose e infarto do miocárdio, além de algumas atividades biológicas específicas, tais como propriedades antibacterianas (Motohashi et al., 2004). Nesse sentido, esse relato visa fornecer informações atualizadas sobre as principais atividades biológicas dos diversos extratos e componentes biológicos obtidos de *M. emarginata*, enfatizando seus principais metabólitos encontrados e potencial biotecnológico, de artigos científicos cuja utilização de métodos atuais e bem aceitos na comunidade científica. Além disso, informações preliminares sobre a caracterização fitoquímica e potencial microbiológico do extrato salino, obtido por nossa equipe de pesquisa, também serão explanadas.

2 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DOS DIVERSOS ÓRGÃOS DE *M. emarginata*

A caracterização fitoquímica da acerola é objeto de estudo há anos, no mundo todo. Sua importância está relacionada à aplicação na saúde e também na agricultura, pois sua utilização e comercialização é reconhecida mundialmente.

Segundo Vendramini & Trugo (2000) a composição química e distribuição dos componentes do aroma da acerola, depende da espécie, condições ambientais e do estágio de maturação do fruto. Por isso, alguns autores submeteram seus estudos fitoquímicos, abordando as diversas possibilidades de acesso da população mundial à acerola. Nesse caso, Leffa (2014) apresenta um ensaio que revela as variações nas taxas de metabólitos secundários encontrados tanto na polpa do fruto da acerola industrializada, como no suco do fruto fresco maduro e não maduro. E os resultados ratificam a afirmação de Vendramini (2000), pois os valores denotaram uma variação muito relevante para esse tipo de atividade. A composição química nos três tipos de amostra, apresentadas por Leffa (2014), revelaram as mesmas composições secundárias entre si, compartilhando da mesma metodologia, mas seus níveis eram diferentes.

A análise cromatográfica dos níveis de rutina, quercetina e ácido ascórbico presentes no fruto de cada espécie de amostra, foram analisados por HPLC, revelando que os níveis de ácido ascórbico nas amostras do suco não maduro foram muito maiores em comparação com o suco maduro e industrial (Tabela 1). Já a rutina e quercetinas identificadas nas amostras, apresentaram-se maior concentração no suco de frutos maduros, seguindo pelo industrial e o de frutos não maduros.

AMOSTRA	ÁCIDO ASCÓRBICO ^a	RUTINA ^a	QUERCETINA ^a
Suco de acerola não maduro	4942,70 ± 11,52	73,67 ± 0,43	44,83 ± 0,16
Suco maduro de acerola	3548,70 ± 22,15	107,67 ± 0,93	71,33 ± 0,96
Suco de acerola industrial	2738,00 ± 31,85	95,83 ± 3,31	50,83 ± 0,64

Resultados em mg / 100 g de amostra.

Tabela 1: Análise quantitativa de HPLC de ácido ascórbico (vitamina C), rutina e quercetina em amostras de suco de acerola liofilizadas. Leffa (2014)

Seguindo a mesma lógica com a caracterização bioquímica dos frutos da acerola, o autor traz em seu trabalho não só a análise qualitativa, mas também quantitativa dos níveis de taninos, flavonóides e fenóis totais presentes nas amostras (Tabela 2).

De acordo com a tabela, as análises quantitativas do teor de fenóis, taninos e flavonóides mostraram que o suco industrializado da acerola continha níveis mais altos dessas substâncias em relação ao suco maduro e o não maduro (Leffa, 2014). Os autores não explicam a variação revelada, principalmente diante da certeza de que o suco industrializado apresentou níveis bioquímicos mais favoráveis para o consumo, quando comparados ao fruto fresco, e pré-colhido.

AMOSTRA	FLAVONOIDES	FENÓIS	TANINOS
Suco de acerola não maduro	0,096 ± 0,02	20,33 ± 0,12	0,31 ± 0,07
Suco maduro de acerola	0,086 ± 0,01	19,90 ± 0,10	0,64 ± 0,17
Suco de acerola industrial	0,164 ± 0,02	22,42 ± 0,05	3,22 ± 0,09

Flavonóides totais (em mg) equivalentes a quercetina por 100 g de extrato.

Fenóis totais (em mg) equivalentes a pirogalol por 100 mg de extrato.

Tabela 2: Análise fitoquímica de amostras de suco de acerola liofilizado. Leffa (2014)

Entretanto, Lima (2008) apresenta um estudo sobre a sazonalidade dos micronutrientes das folhas da aceroleira, considerando maturação, épocas do ano, níveis de precipitação da região, umidade relativa do ar, entre outros componentes, e comprova que a variação sazonal de várias composições de sais minerais da aceroleira é uma realidade. De tal modo, é importante destacar que como um ser vivo que constitui de um aparato fisiológico, assim como nas folhas, a sazonalidade também pode influenciar sobre os frutos, sendo uma hipótese para a variação das taxas fitoquímicas das amostras de Leffa (2014).

3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são substâncias capazes de atrasar ou inibir a oxidação de um substrato qualquer. O seu papel é proteger as células do organismo contra a oxidação dos radicais livres. E um dos fatores que mais causa o estresse oxidativo e diversos processos inflamatórios constantes, é a obesidade. O estresse oxidativo desencadeia estimula a liberação e produção exacerbada de citocinas inflamatórias, aumentando ainda mais a produção de radicais livres no organismo (Leffa, 2014). Higdon (2003) confirma a importância da utilização de suplementos alimentares a base de antioxidantes, por pessoas obesas, reduzindo o desenvolvimento da obesidade nesses indivíduos. Slavin (2012) ratifica também que a ingestão correta de diversas frutas e vegetais trazem consigo uma série de benefícios como a prevenção de doenças cardiovasculares, pois contém fitoquímicos que funcionam como anti-inflamatórios, antioxidantes e fitoestrógenos.

O mesmo ocorre com a *Malpighia emarginata* que além de conter propriedades naturais de um fruto, rica em fibras e minerais, os elevados índices de Ácido Ascórbico

(AA), atenuam ainda mais seu potencial antioxidante (Dias, 2014). Nunes (2013) confirma que o suco da acerola além de antioxidante, possui propriedades antígeno-tóxicas, utilizando o método de extinção de radicais livres ao dosar o di (fenil) - (2,4,6-trinitrofenil) iminoazânio (DPPH).

Mezadri (2008) e Leffa (2014) apresentam estudos que confirmam essas ações antioxidantes, anti-inflamatórias e no combate à obesidade. Entre eles, Mezadri (2008) concentra ações sobre a investigação dos níveis e potenciais antioxidantes do AA em relação a outros metabólitos secundários, que também possuem a mesma propriedade, e confirmou em sua investigação, que apenas o AA presente nos frutos de *M. emarginata* é responsável por uma faixa de 40 a 83% da atividade antioxidante total. Por meio de HPLC foram dosados os níveis quantitativos de polifenóis presentes nas amostras, o que também confirmou sua presença e potencial ação antioxidante emanesciente (Mezadri, 2008).

4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os vegetais vêm sendo muito utilizados para tratamento de enfermidades principalmente pela sua composição fitoquímica, apresentando metabólitos secundários com propriedades medicinais, por terem a eficiência de produzirem algumas substâncias com valores antibióticos que podem ser utilizadas contra microorganismos lhe atribuindo um potencial antimicrobiano (Gonçalves, 2005).

Silva (2014) realizou estudos com as polpas de algumas frutas tropicais, em especial a da acerola (*M. emarginata*) para constatar a eficácia desse produto na atividade antimicrobiana contra os microorganismos *Listeria sp.* e *Escherichia coli* K 12, a partir de nanopartículas encapsuladas de *M. emarginata*, caracterizadas de seu extrato fenólico. A avaliação partiu das nanopartículas sintetizadas pelas concentrações PLGA 65:35 e PLGA 50:50 (ácido poli láctídeo co-glicolídeo).

Com relação a acerola a amostra que apresentou melhor resultado para ser analisada foi as sintetizadas por PLGA 50:50. Foram realizados testes de concentração inibitória mínima (MIC) em que obtiveram o resultado de efeito bactericida para *L. Monocytogenes* com um MIC de 2000 µg/mL, e uma MIC para *E. coli* foi de 3000 µg/mL. Oliveira (2015) elaborou testes antimicrobianos de difusão de placa, concentração inibitória mínima (MIC) e biofilme com o extrato fenólico da acerola (*M. emarginata*) frente as bactérias gram negativas e gram positivas, em que, para o teste de difusão de placa não foi constatado inibição para as cepas, porém, quanto ao MIC todas as bactérias (*Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescense*, *Salmonella spp*, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogene* e *Bacillus cereus*) submetidas a testes apresentaram sensibilidade ao extrato da acerola, com resultados variando de 1462, 18 a 974,79 AGE/L. Para o biofilme o extrato de *M. emarginata* constatou um potencial de inibição de biofilme para todas as concentrações.

5 ATIVIDADE ANTITUMORAL

Pesquisas recentes apontam que, além da vitamina C, as frutas de acerola são

fontes de fitoquímicos como antocianinas, flavonóides, ácidos fenólicos e polifenóis (Vendramini, 2004). Além das variadas propriedades citadas anteriormente nesse trabalho, Liu (2014) comprova a atividade citotóxica de compostos isolados das partes aéreas da *Malpighia emarginata* chamados Acerolamina A, B e C. Em concentrações de 40 µM para cada composto isolado, foi possível observar o decaimento nas linhagens celulares de Câncer de Mama (MCF-7), Carcinoma hepatocelular (SMMC-7721), Leucemia mielóide (HL-60), Câncer de pulmão (A-549) e o câncer de cólon (SW480) testadas, em mais de 50%.

Motohashi (2004) fez algo semelhante testando várias frações de extrato Hexano-acetona do fruto da *M. Emarginata* em atividade citotóxica, utilizando linhagens de células do carcinoma de células escamosas humanas (HSC-2) e do carcinoma das glândulas submandibulares humanas (HSG). A fração testada numa proporção de hexano-acetona de 4:1 mostrou maior atividade citotóxica sobre as linhagens celulares testadas.

6 NOVOS ENSAIOS

O uso de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de determinadas doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade e está apoiada em um conhecimento consolidado por séculos de observação em diferentes partes do mundo. Entretanto, a cultura popular colabora com o uso indiscriminado de plantas medicinais dentro do contexto da automedicação, sendo necessário o estudo dos seus constituintes, do mecanismo de ação terapêutica e a identificação de princípios ativos responsáveis pelas diversas atividades biológicas relatadas pela população (Dalla Lana et al., 2012). Muitas áreas estão envolvidas na pesquisa de novas substâncias oriundas de plantas, como a fitoquímica, que trabalha no isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos, a etnobotânica e a etnofarmacologia, que buscam informações a partir do conhecimento de diferentes povos e etnias e a farmacologia, que estuda os efeitos farmacológicos de extratos e dos constituintes químicos isolados (Albuquerque et al., 2006).

Na literatura, atualmente, poucos são os estudos com as folhas da *Malpighia emarginata*. Pensando nesse aspecto, propomos o estudo fitoquímico, antioxidante e microbiológico do extrato salino das folhas da acerola.

6.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO E PREPARAÇÃO DO EXTRATO SALINO - As folhas de *Malpighia emarginata* foram coletadas no campus da Universidade Federal de Pernambuco - Brasil. As folhas de *M. emarginata* foram secadas naturalmente. Depois, o material moído, pesado e preparado o extrato (10% p/v) em NaCl por 16 horas em temperatura ambiente, sob agitação constante. Em seguida, o material foi filtrado e armazenado sob refrigeração a 4 °C até a sua utilização.

6.2 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO SALINO DAS FOLHAS DE *Malpighia emarginata* - Os extratos salinos obtidos de *Malpighia emarginata* foram analisados por cromatografia de camada delgada usando placas de sílica gel F254 (ALUGRAM® 818131, Macherey-Nagel, Alemanha) utilizando diferentes sistemas de solventes. Foi realizado testes qualitativos quanto a

presença ou ausência de flavonoides, saponinas, taninos hidrolizados e condensados, fenóis, antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas e auronas. Os resultados obtidos constataram presença de saponinas, taninos condensados, fenóis totais e flavonoides e estão representados na Tabela 3.

Saponinas	Taninos		Fenóis	Flavonóides	Antocianinas e Antocianidinas	Flavonas, Flavonóis e Xantonas	Chalconas e Auronas
	Hidrolizados	Condensados					
+++	-	+	+	+	-	-	-

Tabela 3: Caracterização fitoquímica do extrato salino das folhas de *M. emarginata*

7 Agradecimentos e apoio

Agradecemos ao apoio dos laboratórios de Glicoproteínas, de Atividades Imunológicas e Antitumorais, de Bioquímica de Proteínas e de Biofísica nos quais realizamos os nossos experimentos.

8 REFERÊNCIAS

- Albuquerque, U.P.; Hanazaki, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 16 (Supl.), Dez. 2006.
- Dalla Lana. et al. Uma revisão sobre as propriedades farmacológicas, morfoanatomia e toxicidade de *Xanthium Cavanillesii*. **Schouw**, n.1, p. 57-70, 2012.
- Dias, F. M. et al. Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) juice intake protects against alterations to proteins involved in inflammatory and lipolysis pathways in the adipose tissue of obese mice fed a cafeteria diet. **Lipids in Health and Disease**, 13, p. 24, 2014.
- Gonçalves, A.L. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, jul./set., 2005.
- Higdon, J.V; Frei, B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, 23, pp. 365-367, 2003.
- Jacob, Robert A.; Burri, Betti J. Oxidative damage and defese. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 63, n. 6, 1996.
- Leffa D. D. et al. Corrective effects of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) juice intake on biochemical and genotoxical parameters in mice fed on a high-fat diet. **Mutat Res.**, 770:144-52, 2014.
- Lima, R. L. S. et al. Micronutrients seasonal variation in acerola leaves (*Malpighia emarginata* DC.). **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 869-874, maio/jun., 2008.
- Liu, J-Q. et al. Three New Tetranorditerpenes from Aerial Parts of Acerola Cherry (*Malpighia emarginata*). **Molecules**, 19, pp. 2629-2636, 2014.

- Mezadri, T. et al. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, 21, pp. 282-290, 2008.
- Motohashi, N. et al. Biological activity of barbados cherry (acerola fruits, fruit of *Malpighia emarginata* DC) extracts and fractions. **Phytother. Res.**, 18: 212–223, 2004.
- Nunes, R. S. et al. Genotoxic and antigenotoxic activity of acerola (*Malpighia glabra* L.) extract in relation to the geographic origin. **Phytother. Res.**, 27, pp. 1495–1501, 2013.
- Slavin, J.L.; Lloyd, B. Health benefits of fruits and vegetables. **Adv. Nutr.**, 3, pp. 506-516, 2012.
- Souza, M.J.H. et al. Potencial agroclimático para a cultura da acerola no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.10, n.2, p.390–396, 2006.
- Vendramini, A. L.; Trugo, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chem.**, 71, 195–198, 2000.
- Vendramini, A. L.; Trugo, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia punicifolia*, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 15, 2004.

PSEUDOCIESE EM CADELAS

Ana Cristina Costa de Sousa¹, Mirelly Santos de Lima¹, Thiago Felix Bezerra¹, Thyago Gonzaga Batista de Lira¹, Edvaldo Vitório Araújo Ferreira Silva¹, Elayne Cristine da Silva²

¹ Centro Universitário Maurício de Nassau - UNINASSAU

² Centro Universitário Maurício de Nassau- UNINASSAU
aninha1_costa@hotmail.com

Resumo

A pseudociese ou pseudogestação é uma situação apresentada em fêmeas não gestantes, podendo ocorrer com frequência em cadelas intactas. Quando associada a sinais clínicos e alterações comportamentais, semelhantes aos que ocorrem na gestação, é denominada pseudociese clínica ou manifesta. Objetiva-se com esta revisão, discorrer sobre as características mais relevantes da fisiologia, as possíveis etiologias e hormônios atuantes nesse processo, sinais clínicos, diagnóstico e tratamentos expostos na literatura; a respeito deste tema tão importante e frequente na clínica de pequenos animais.

Palavras chave: pseudogestação, canina, fisiologia, reprodução.

1 Introdução

A pseudociese, pseudogestação clínica ou manifesta, pseudoprenhez, falsa gestação, falsa prenhez, gestação psicológica ou ainda lactação nervosa, pode ser definida como uma síndrome que ocorre com frequência em cadelas inteiras não gestantes, seis a quatorze semanas após o estro, caracterizada por vários sinais clínicos e mimetização dos comportamentos pré, peri epós-parto (BERNARDO, 2010). A pseudogestação não apresenta predisposição entre faixas etárias, raças ou entre portes físicos (MARTINS & LOPES, 2005). É difícil estimar sua incidência, uma vez que os sinais podem ser muito discretos, porém, geralmente considera-se que a maioria das cadelas (50-75%) apresentará alguns sinais (HOSPOOLS, 2007).

Os sinais clínicos variam em intensidade, desde a distensão abdominal com hiperplasia mamária e produção de quantidades variáveis de leite, até a mimetização quase completa do parto incluindo nervosismo, excitabilidade e respiração ofegante (GOBELLO et al., 2001; SILVA, 2009); podendo ainda mostrar comportamento materno em relação a objetos inanimados (HOSPOOLS, 2007).

Durante o levantamento bibliográfico, foram consultadas várias literaturas relacionadas ao assunto em questão, dentre elas, artigos científicos publicados, que possibilitaram a fundamentação para a escrita deste artigo.

2 Fisiologia

Para melhor compreensão dos mecanismos da pseudociese, o conhecimento sobre a fisiologia do ciclo estral da cadela é imperativo, enfocando-se principalmente a fase lútea ou de diestro. Essa fase é caracterizada pelo predomínio de progesterona, produzida a partir do corpo lúteo (NETT et al., 1975; PAULO et al., 2007). Em cadelas, a pseudociese é ocasionada pelo declínio da concentração de progesterona sérica (STEINETZ et al., 1989), associado ao término da fase lútea, que por sua vez, causa um aumento na concentração de sérica de prolactina, que é liberada pela hipófise a partir do dia 35 do ciclo, exatamente como ocorre no parto (HOSPOOLS 2007; RIBEIRO 2011). A prolactina é o hormônio-chave da lactogênese, do início da manutenção da lactação e pelo desencadeamento do comportamento materno canino. A cadela ovula espontaneamente e sempre reinicia uma longa fase lútea, portanto a pseudociese é um fenômeno comum para cadelas em ciclos, podendo ocorrer também após a administração de progestágenos exógenos e após ovariectomia realizada durante o diestro (RIBEIRO 2011).

A progesterona, hormônio esteróide, um dos que controlam o ciclo reprodutivo da espécie canina, tem o corpo lúteo como local de origem primária durante a gestação. Esse hormônio realiza diversas funções no sistema reprodutivo das fêmeas tais como: regular a duração do ciclo estral, promover o relaxamento do miométrio, estimular a proliferação de células endometriais e manter no útero as condições necessárias para o desenvolvimento do concepto (VERMEIRSCH et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2003; BERTAN 2006; VEIGA et al., 2009).

A prolactina é considerada o fator luteotrófico mais importante, produzido pelas células lactotróficas da adenohipófise, sendo sua secreção estimulada por meio da supressão de dopamina hipotalâmica. A prolactina circulante apresenta-se sob quatro formas moleculares até então identificadas, cujas concentrações não diferem entre cadelas que apresentam pseudociese (MARTINS & LOPES, 2005).

Os estímulos sensoriais são levados ao hipotálamo, onde se sintetiza PRF (Fator de liberação de Prolactina) e se secreta a dopamina, principal fator de inibição da prolactina, conhecido também como PIF (Fator Inibidor da Prolactina). Há evidência que o VIP (Peptídeo Intestinal Vasoativo) induz a secreção de PRF. Os valores de PRL em circulação diminuem na medida em que a lactação avança (GAONA, 2001).

3 Diagnóstico

O diagnóstico da pseudogestação baseia-se na história (anamnese), nos sinais clínicos e comportamentais e na fase do ciclo estral em que essa fêmea se encontra (MARTINS & LOPES, 2005). A palpação pode suspeitar e a ultrassonografia abdominal pode confirmar a ausência de fetos (RIBEIRO, 2011). Ressalta-se que é prudente fazer o diagnóstico diferencial com gestação, parto recente e piometra pela ultrassonografia. Adicionalmente, é importante lembrar que outras causas podem estar associadas à galactopoiese com hiperprolactinemia, como o hipotireoidismo primário, microadenomas pituitários, falha renal ou hepática, administração de esteróides sexuais e o uso de medicações psico-ativas (MARTINS & LOPES 2005).

4 Tratamento

Em algumas fêmeas, observa-se a remissão espontânea dos sinais clínicos, principalmente em função da ausência de estímulos promovidos pela amamentação que acarreta numa não sinalização de reflexos neuroendócrinos, que ocasionam a redução de prolactina (SANTOS 2004). A simples privação de água por três ou quatro noites consecutivas é eficaz, associado com a administração de furosemida (2mg/kg, via oral, duas a três vezes ao dia) (RIBEIRO, 2011), devendo-se avaliar a função renal previamente (MARTINS & LOPES, 2005).

Em casos mais complexos, recomenda-se o tratamento medicamentoso. Atualmente, as drogas mais indicadas e utilizadas são as anti-prolactínicas. A secreção de PRL é regulada positivamente pela serotonina e negativamente pela dopamina, portanto, os fármacos antagonistas da serotonina (metergolina/Contralac®) e agonistas dopaminérgicos (bromocriptina/Parlodel® e cabergolina/Galastop®) causam uma redução da secreção de PRL hipofisária e conseqüente diminuição da lactogênese (SANTOS 2004).

5 Recomendações

Quando não houver interesse em usar as fêmeas para reprodução, é importante instruir os tutores, que tanto para a prevenção quanto para o tratamento definitivo, a ovariossalpingohisterectomia é indicada (MARTINS & LOPES 2005; HOSPOOLS 2007). Destacam-se como complicações decorrentes dessa síndrome, a distensão mamária e retenção láctea, com possibilidade de mastite secundária à estase do leite; a ocorrência de dermatite mamária e mastites (MARTINS & LOPES 2005). Um outro fator importante é o aumento da chance do desenvolvimento precoce de tumor de mama (OLIVEIRA L.O et al., 2003; MARTINS & LOPES 2005,); além dos problemas de fertilidade em cadelas, que quando não associados ao manejo, podem estar relacionados a intervalos interestrais prolongados, caracterizando persistência do diestro (CARDOSO 2012; LANNA et al., 2012).

Caso a fêmea seja castrada durante um episódio de pseudociese, a condição pode se prolongar ou tornar-se permanente (MARTINS & LOPES 2005; RIBEIRO 2011).

6 Considerações finais

A incerteza na etiopatogenia dessa síndrome apresentada em diversas pesquisas demonstra o quanto esta ainda precisa ser estudada. Apesar dos seus sinais clínicos serem de fácil reconhecimento, o conhecimento dos aspectos reprodutivos básicos é imprescindível para o suporte à clínica e a disseminação de novos protocolos de tratamento, contribuindo também para o esclarecimento das questões que circundam a fisiologia reprodutiva feminina da espécie canina.

7 Agradecimentos

A nossa orientadora Prof^ª. Dra. Elayne Cristine da Silva pelo incentivo, disponibilidade e paciência na realização deste trabalho.

8 Referências

- BERNARDO A.C. **Hipocalcemia puerperal canina**. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás – UFG - Campus Jataí, – GO, 2010.
- BERTAN C.M. **Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise - revisão de literatura**. Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v. 43, n. 6, p. 824-840, 2006.
- CARDOSO R.C.S. **Infertilidade na cadela e na gata**. Palestra apresentada no VI Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal, Fortaleza – CE. Ciência Animal, 22(1): p. 235-247, 2012.
- GAONA R.C. **Papel dos hormônios na lactação**. Seminário apresentado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS – RS - 2001.
- GOBELLO C. et al., **Canine pseudopregnancy: a review**. Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA, 2001.
- HOSPOOLS L. **Reprodução em cães**. Compêndio de Reprodução Animal. Intervet, 2007. p. 268-269.
- LANNA L.L. et al., **Abordagem clínica da infertilidade na cadela e patologias associadas: revisão**. Rev. Bras. Reprod. Anim. Belo Horizonte, v.36, n.2, p.113-121, 2012. Disponível em www.cbra.org.br.
- MARTINS L.R. LOPES M.D. **Pseudociese canina**. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.29, n.3/4, p.137-141, 2005. Disponível em www.cbra.org.br.
- NETT T.M. **Levels of luteinizing hormone, estradiol and progesterone in serum during the estrous cycle and Pregnancy in the beagle bitch**, v. 148 issue: 1, p. 134-139, 1975.
- OLIVEIRA L.O et al., **Aspectos epidemiológicos da neoplasia mamária**. Acta Scientiae Veterinariae. 31(2), p. 105-110, 2003.
- OLIVEIRA E.C.S. et al., **Endocrinologia reprodutiva e controle da fertilidade da cadela – revisão**. Archives of Veterinary Science v. 8, n. 1, p. 1-12, 2003.
- PAULO et al., **Seminário sobre o sistema reprodutivo canino**. Apresentado no Instituto Federal de Brasília, Campus Planaltina – DF, 2013.
- RIBEIRO L.G.R. **Patologias do sistema reprodutor em cães e gatos**. Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2011.
- SANTOS L.C. **Hormônioterapia em pequenos animais**. Seminário apresentado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS – RS - 2004.
- SILVA T.C. et al., **Avaliação do efeito inibitório da metergolina na lactação de cadelas com pseudociese – Relato de Caso**. Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE - Recife – PE, 2009.
- STEINETZ B.G et al., **Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches:**

detection of relaxin as a marker of pregnancy. Publisher: American Journal of Veterinary Research, p. 68-71, 1989.

VERMEIRSCH H. et al., **Immunohistochemical detection of progesterone receptors in the canine uterus and their relation to sex steroid hormone levels,** Theriogenology, v. 53, Issue 3, February 2000, p. 773-788.

VEIGA G.A.L et al., **Endocrinologia da gestação e parto em cadelas.** Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.33, n.1, p.3-10, 2009. Disponível em www.cbpa.org.br.

QUITOSANA: UM BIOPOLÍMERO COM FUNÇÕES BIOMÉDICAS

Rodrigo Guilherme Gusmão de Moraes, Ana Beatriz Lins Aragão, Ewerlayne
Cristina Alexandre da Silva
Universidade Federal Rural de Pernambuco
rodrigo_gusmao1998@outlook.com

Resumo

Quitosana é um biopolímero natural, biodegradável, abundante e atóxico derivado do processo de desacetilação da quitina. Diversos estudos evidenciam suas propriedades para aplicações nas áreas, dentre suas propriedades estão: cicatrização, atividade antimicrobiana e absorção de gorduras. Grandes centros internacionais de pesquisa estudam as aplicações deste polímero nas áreas farmacêuticas, médicas e biotecnológica. O objetivo desta revisão de literatura é abordar o conceito e funções da quitosana, em especial, os benefícios que a sua utilização pode trazer às áreas médicas.

Palavras-chaves: quitosana, biopolímero, aplicação biomédica.

1 Introdução

Os biopolímeros são materiais poliméricos de origem natural ou sintética, que são utilizados em aplicações biomédicas. Em sua maioria, eles são biodegradáveis, o que os torna mais atrativos do que os biomateriais tradicionais, os quais apresentam problemas de biocompatibilidade e biodegradabilidade, quando implantados por períodos longos de tempo (FERNANDES, 2009).

Quitosana é um biopolímero natural, biodegradável, extremamente abundante e atóxico. É derivado do processo de desacetilação da quitina, que constitui a maior fração dos exoesqueletos de insetos e crustáceos, ou seja, sua fácil obtenção se dá principalmente por se tratar de rejeitos da indústria pesqueira. Suas características físico-químicas resultam em propriedades como fácil formação de géis, capacidade de filmogênica e resistência mecânica e acabam sendo potencialmente atraente para segmentos de biotecnologia, agroindústria e farmacêutica (LIMA, 2015).

LI et al (2005, apud SILVA et al., 2011) relatam que obtidos a partir de matéria-prima abundante e de baixo custo, ambos os polímeros têm sido alvo de um grande interesse por possuírem propriedades interessantes que os tornam adequados para utilização na área biomédica. Estudos recentes têm evidenciado a possibilidade de modificações na estrutura da quitosana, tornando-a solúvel em meio aquoso e aumentando consideravelmente suas propriedades para determinadas aplicações de uso final em áreas diversificadas. Dentre elas, a propriedade antimicrobiana contra diferentes grupos de microrganismos, tais como bactérias, leveduras e fungos, têm recebido considerável atenção nos últimos anos.

Devido à disponibilidade mundial desta matéria-prima, são encontrados na literatura diversos métodos para a extração e a caracterização da quitina, principalmente a que proveniente da carapaça de crustáceos, além de métodos para a obtenção e a caracterização da quitosana e de membranas à base de quitosana com aplicação em processos de regeneração de pele atuando como pele artificial ou como recobrimento temporário de peles adaptadas principalmente por queimaduras. Grandes centros internacionais de pesquisa que estudam as aplicações destes polímeros na área farmacêutica, médica e biotecnológica (DALLAN, 2005).

O desenvolvimento de novos materiais baseados na quitosana, a serem empregados em aplicações tecnológicas e biomédicas, é um campo de pesquisa muito atraente, o que tem sido corroborado pelo grande número de publicações científicas e patentes (LARANJEIRA, 2009). Portanto, o objetivo desta revisão é abordar o conceito e as funções da quitosana, em especial, os benefícios que a sua utilização pode trazer às áreas médicas.

2 Curativos a base de quitosana

A pele recobre a superfície do corpo e apresenta-se constituída por uma porção do epitelial de origem ectodérmica, a epiderme, e uma porção conjuntiva de origem mesodérmica, a derme. A pele é um dos maiores órgãos do, atingindo 16% do peso corporal. Desempenha múltiplas funções: protege o organismo contra a perda de água e contra o atrito, recebe constantemente informações sobre o meio ambiente e as envia para o sistema nervoso central, colabora na termorregulação do corpo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004, p. 359). A cura de uma lesão na pele é muito complicada, incluindo uma vasta gama de processos celulares, moleculares, biológicos e fisiológicos. Muitos estudos têm sido relatados sobre o uso de quitosana como material de substituição da pele na engenharia de tecidos cutâneos, as suas muitas vantagens para a cicatrização de feridas tais como hemostasia, acelerando a regeneração tecidual e estimulando a síntese de fibroblastos de colágeno (KIM et al., 2008).

A propriedade imunomoduladora da quitosana é devida à sua capacidade de ativar quase que exclusivamente o macrófago e explicar a ação somente seu papel na aceleração da cicatrização de lesões, mas também a biodegradabilidade desse polímero no organismo. Os macrófagos, ativados pelos oligômeros de quitina e quitosana de baixa massa molecular, liberam interleucina-1, que estimula a proliferação de fibroblastos e influencia a estrutura do colágeno. Liberam, também, *N*-acetilglicosaminidase, que hidrolisa a quitosana a monômeros de *N*-acetilglicosamina e glicosamina, unidades de açúcares necessárias à biossíntese do ácido hialurônico e outros componentes da matriz extracelular pelos fibroblastos. Promovem a migração de neutrófilos, facilitando a resolução da resposta inflamatória. As atividades bactericidas e bacteriostáticas sugerem que estes polímeros podem prevenir infecções, se aplicados diretamente no local da lesão (HÉLIO et al, 2006).

3 Atividade Antimicrobiana

A quitosana e seus derivados estão sendo amplamente pesquisados para sua aplicação como agente antimicrobiano. No entanto, estudos demonstram que estes biopolímeros encontram-se aquém dos requisitos necessários para serem utilizados com tal finalidade. Por este motivo, que muitas pesquisas têm buscado a interação da quitosana e seus derivados com substâncias inorgânicas (Ag, Cu, Zn e etc), no intuito de ampliar suas características biocidas. Neste contexto, a incorporação de prata na matriz da quitosana para sua aplicação na área antimicrobiana. A incorporação ocorre por adsorção química utilizando-se solução aquosa de nitrato de prata. Os resultados obtidos confirmam que a quitosana quando tratada com prata apresenta excelente atividade bactericida frente aos microrganismos testados (MILIOLI, 2011).

A quitosana é reconhecidamente um polímero com atividade antimicrobiana e a presença desta propriedade em filmes de quitosana e quitosana modificada quimicamente permite sua utilização em diversas aplicações. Contudo, estudos detalhados são necessários para elucidar os mecanismos da atividade dos polímeros obtidos, assim como avaliar o efeito das respectivas soluções sobre as cepas microbianas testadas (SILVA et al., 2011).

4 Absorção de gorduras

Na área médica a quitosana tem sido muito utilizada para inibir a absorção de gordura pelo organismo. O mecanismo pelo qual a quitosana atua na adsorção dessa gordura ainda não está totalmente compreendido. Mas certo número de observações sugerem a ocorrência de adsorção por neutralização de cargas e ao entrelaçamento das gorduras feito pelo mecanismo de ponte. As cargas positivas da quitosana atraem os ânions dos ácidos graxos e ácidos biliares carregados negativamente. Forma-se um complexo não digerível pelo organismo, que é então excretado juntamente com as fezes (LIMA, 2005). Duas das propriedades farmacológicas da quitosana que vêm sendo bastante explorada pela comunidade científica mundial são a sua capacidade de auxiliar na redução de peso corporal através da captura de gordura ingerida e a sua capacidade de redução dos níveis de colesterol LDL, sem que a mesma afete significativamente os níveis de colesterol HDL e outros nutrientes essenciais (DAMIAN et al., 2005).

5 Agradecimentos e apoios

Agradecemos principalmente a organização do IV Simpósio de Morfologia e Fisiologia Animal e também a Universidade Federal Rural de Pernambuco por sediar um evento de tamanha importância para toda a comunidade acadêmica.

6 Referências

FERNANDES, L. F.; **Produção e caracterização de membranas de quitosana e quitosana com sulfato de condroitina para aplicações biomédicas**. Rio de Janeiro, RJ: [s.n], 2009.

- LIMA, C. F.; **Potenciais aplicações da quitosana nas áreas de biotecnologia, agroindústria e farmacêutica**. Lorena, SP:[s.n], 2015.
- SILVA, R. P. F. et al. **Avaliação microbiológica de filmes de quitosa e seus derivados obtidos a partir de resíduos de processamento do camarão marinho *Litopenaeus vannamei***. Balneário Camboriú, SC: [s.n], 2011.
- DALLAN, P. R. M.; **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele**. Campinas, SP: [s.n.], 2005.
- LARANJEIRA, M. C. M.; e FÁVERE, V. T.; **Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico**. Florianópolis, SC: Quim. Nova, 2009.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; **Histologia Básica**. 10. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2004.
- KIM, I-Y. et al.; **Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications**. South Korea:[s.n], 2007.
- HÉLIO, S. R. et al.; **Quitosana; derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços**. São Paulo: Quim. Nova, 2006 .
- MILIOLI, C. C.; **Avaliação da atividade antimicrobiana da quitosana em pó dopada com prata**. Florianópolis, SC:[s.n], 2011.
- LIMA, E. C. G. B.; **Utilização de quitosana no processo de clarificação de caldo de cana para fabricação de açúcar do tipo mascavo**. Viçosa, MG: [s.n], 2005.
- DAMIAN, C et al.; **Quitosana: um aminopolissacarídeo com características funcionais**. Araraquara: Alim. Nutr. v. 16, n. 2, p.195-205, 2005.

RELAÇÃO COMPRIMENTO-PESO DA GUARAJUBA (*CARANGOIDES BARTHOLOMAEI*) CAPTURADA NA PESCA DE CURRAIS NO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO

Vívian Graziela Oliveira Carneiro¹, Victor Sacramento Dias¹, David Nunes Aguiar Bruzaca¹, Humber Agrelli de Andrade¹

¹Laboratório de Modelagem Estatística Aplicada, Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE, Recife, 52171-900, Brasil.
carneirovivian0@gmail.com

Resumo

A relação comprimento-peso é fundamental para o estudo da dinâmica de populações pesqueiras, resultando em informações importantes para o manejo sustentável da pescaria. Este trabalho apresenta a relação comprimento-peso da guarajuba coletada em quatro currais ativos em Pontas de pedra, litoral norte do estado de Pernambuco. Foram analisadas 199 espécimes com comprimento padrão entre 86 e 219mm. Os parâmetros estimados do modelo comprimento-peso indicaram um crescimento isométrico para a espécie.

Palavras chave: comprimento, isometria, pesca, peso.

1 Introdução

A relação comprimento-peso (RCP) descreve a variação do peso em função da variação do comprimento. Além de ser utilizada para estimar o peso de um peixe a partir de um dado comprimento, e vice-versa, é possível relacionar as mudanças da forma corporal e peso com as diferentes situações, como crescimento e fatores antropogênicos, assim como inferir índices de condições corporais e comparar populações de peixes ou espécies de diferentes regiões e ambiente (VIANA et al., 2016). Assim, a RCP é importante tanto para gestão da pesca quanto para programas de monitoramento ambiental (MOREY et al., 2003).

A espécie *Carangoides bartholomaei* (Figura 1), conhecida vulgarmente por guarajuba, pertence à família Carangidae a qual apresenta alguns dos peixes mais importantes para comercialização. No Atlântico ocidental, a espécie distribui-se desde Massachusetts (EUA) até São Paulo (Brasil), abrangendo toda a plataforma continental (FLOETER et al., 2003). A guarajuba apresenta-se como um grande recurso pesqueiro para todo o nordeste brasileiro, resultando na segunda espécie mais amostrada da família dos Carangídeos no programa REVIZEE/ SCORE-NE (LESSA et al., 2000). Em 2005, a espécie representou 1,3% da produção de pescado marinho e estuarino do estado de Pernambuco (CEPENE, 2006).

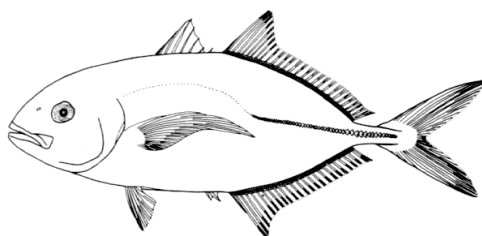


Figura 1: Guarajuba (*Carangoides bartholomaei*) FONTE: Menezes e Figueiredo, 1980.

Em Pernambuco a guarajuba é frequentemente capturada em currais, que são armadilhas fixadas no solo, constituídas de varas de madeira, telas de náilon, redes e cabos de amarração, construídos em regiões de mar tranquilo e de baixa declividade (LUCENA et al., 2013). Em 2006, as pescarias de curral foram responsáveis por 1,14% da produção total de pescado do estado de Pernambuco (IBAMA, 2007). Assim, pretende-se com o presente trabalho fornecer informações que contribuam para eventuais decisões futuras sobre gestão da guarajuba e das pescarias com currais.

2 Material e Métodos

Foram analisados os dados de comprimento e peso de 199 exemplares de guarajuba coletados em quatro currais ativos localizados em Ponta de Pedras, distrito do município de Goiana em Pernambuco. O período da coletas foi entre maio de 2014 e novembro de 2016 (Tabela 1). Durante esse período de estudo, tiveram tanto coletas que não houve ocorrência de guarajubas quanto meses em que não foi possível fazer a coleta.

Ano	Mês											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
2014	-	-	-	-	0	16	4	1	-	16	2	4
2015	2	22	9	11	7	6	3	6	6	17	0	15
2016	-	12	27	0	0	0	-	0	0	0	13	-

- não houve coleta.

Tabela 1: Número de guarajubas (*Carangoides bartholomaei*) coletadas para análise por mês e por ano.

Foi estimada a RCP, sexos agrupados, utilizando-se a expressão de acordo com Le Cren (1951):

$$(1) \quad P = a C^b$$

em que P é o peso total (em g); C é o comprimento padrão (em mm); a é a intercepção da curva de regressão (intercepta P quando C é zero ou coeficiente de crescimento inicial) e b é a inclinação de regressão (coeficiente indicativo de crescimento isométrico ou alométrico).

O parâmetros a e b foram estimados após transformação logarítmica:

$$(2) \quad \log(P) = a' + b' \log(C),$$

em que $a' = \log(a)$ e $b' = b$.

A relação é considerada como isométrica quando $b = 3$, hipoalométrico ou alométrico negativo quando $b < 3$, e hiperalométrico ou alométrico positivo quando $b > 3$ (FROESE et al., 2011). Para estabelecer se os incrementos em peso são isométricos ou alométricos, o valor da constante angular b da regressão foi testado através do teste t , em nível de 5%. O ajuste do modelo aos dados foi medido pelo coeficiente de Pearson R-quadrado (R^2).

3 Resultados e Discussão

O comprimento padrão variou entre 86 e 219mm, média de 148 mm (Figura 2A) o peso total variou entre 13 e 244,97 g, média de 87,95 g (Figura 2B). O tamanho de primeira maturação da guarajuba encontrado em um trabalho realizado na plataforma continental de Pernambuco foi de 300mm para fêmeas (SANTOS, 2012). Sendo assim, a amostragem do presente trabalho foi constituída apenas por indivíduos jovens, de no máximo 219 mm.

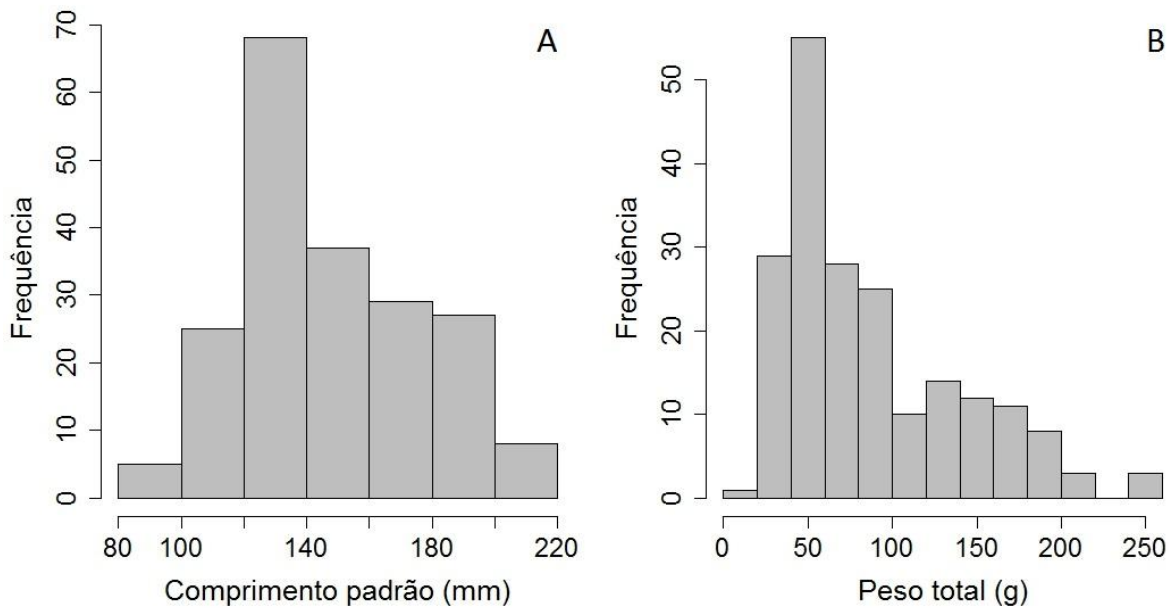


Figura 2: Distribuição de frequência do comprimento padrão (A) e peso total (B) da guarajuba (*Carangoides bartholomaei*) capturada por currais Pontas de Pedra, Goiana-PE.

Os parâmetros estimados pela relação comprimento-peso estão apresentados na Tabela 2. O coeficiente angular estimado foi de 3,031, a partir do teste t podemos afirmar que a *C. bartholomaei* apresenta um crescimento do tipo isométrico ($b=3$), ou seja, o peso aumenta proporcionalmente ao crescimento. A curva apresenta ajuste relativamente bom com a existência de poucos exemplares com valores discrepantes (Figura 3). O valor da inclinação da RCP ocorreu dentro do intervalo esperado, entre 2,50 e 3,50, como demonstrado por Froese (2006). Porém, uma alometria negativa foi observada para a relação comprimento-peso *C. bartholomaei* da plataforma continental de Pernambuco (SANTOS, 2012) e no Golfo de Batabanó, em Cuba (SIERRA et al., 1986).

Parâmetros	
a	$2,062 \times 10^{-5}$
IC 95% a	$1,482 \times 10^{-5}$ – $2,871 \times 10^{-5}$
b	3,031
IC 95% b	2,960–3,098
t_b	0,9340
p	0,2572
R^2	0,97

a= valor do intercepto; b = valor do coeficiente angular; IC 95% = intervalo de confiança; t_b = resultado do teste t para b; p= probabilidade do teste t; R^2 = coeficiente de Pearson

Tabela 2: Estimativas dos parâmetros da relação comprimento-peso (RCP) para a guarajuba (*Carangoides bartholomaei*) capturada em Pontas de Pedra, Goiana-PE.

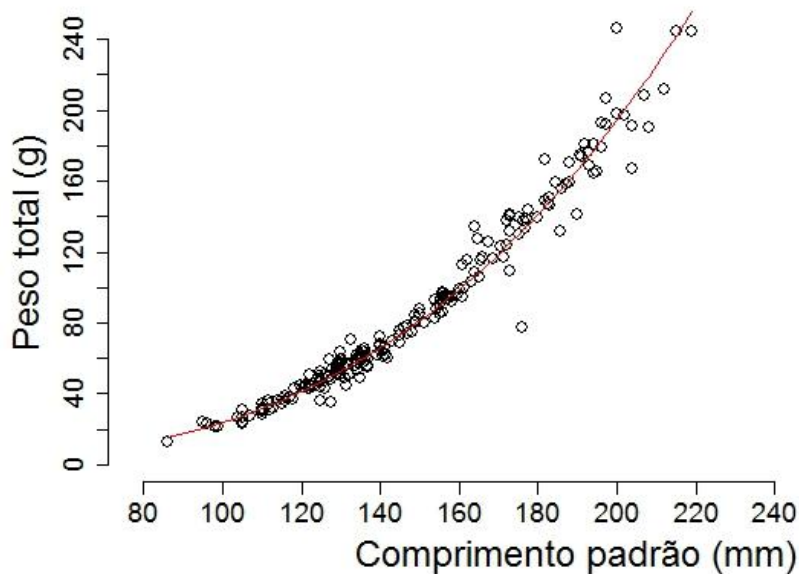


Figura 3: Relação comprimento padrão-peso total para guarajuba (*Carangoides bartholomaei*), sexos agrupados, capturada em Pontas de Pedra, Goiana-PE.

A relação comprimento-peso observada no presente estudo após análise estatística evidenciou um crescimento isométrico para a espécie *Carangoides bartholomaei*. Informação importante, uma vez que para alguns modelos de avaliação de estoques o crescimento isométrico é um pré-requisito. Em adição, constatou-se que apescaria captura indivíduos predominantemente jovens, antes da idade de reprodução, informação importante para avaliar o estado da população, bem como para a gestão do recurso. Assim, recomenda-se estudos sobre o impacto da pesca de currais sobre a população de guarajuba. Além disso, estudos futuros de alometria devem ser empregados para diagnosticar diferentes estratégias de crescimento na espécie e associá-las a fatores ecológicos, comportamentais e fisiológicos.

4 Referências

- CEPENE. Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral do Nordeste. **Boletim Estatístico da Pesca Marítima e Estuarina do Nordeste do Brasil**. p. 236-385. 2006.
- FROESE, Rainer. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. **Journal of applied ichthyology**, v. 22, n. 4, p. 241-253, 2006.
- FLOETER, S. R. et al. Brazilian reef fish fauna: checklist and remarks. **BioBase Project**: <http://www.biobase.org/BCF/Index.html>. Cited, v. 18, 2003.
- IBAMA. **Boletim Estatístico da Pesca Marítima e Estuarina do Nordeste do Brasil** - 2006. Tamandaré. 2007. 157p.

LE CREN, E.D. The length - weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). J. Anim. Ecol., Oxford, v. 20, p. 201-219, 1951.

LESSA Rosângela. N. et al. Guia de identificação de peixes marinhos da região nordeste.

DIMAR, In: **Programa REVIZEE / Score- NE**, 138p. 2000.

LUCENA, Felipe P. et al. A pesca de currais para peixes no litoral de Pernambuco. **Boletim Técnico Científico**, CEPENE, 2013. Tamandaré - PE - v. 19, n. 1, p. 93-102. 2013.

MENEZES, Naércio Aquino; FIGUEIREDO José Lima. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. IV. Teleostei (3)**. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, Brasil. 96 p. 1980.

MOREY, Gabriel et al. Weight-length relationships of littoral to lower slope fishes from the western Mediterranean. **Fisheries Research**, v. 62, n. 1, p. 89-96, 2003.

SANTOS, Máira Nanashara Silva. Reprodução e alimentação da guarajuba *Carangoides bartholomaei* (Cuvier, 1833) (Perciformes: Carangidae) na plataforma continental de Pernambuco, Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Pernambuco. 2012.

SIERRA, L.M. et al. Aspectos de la biología Del cíbiamarillo (*Caranx bartholomaei*, Cuvier, 1833), em La región oriental del Golfo de Batabanó, Cuba. Invest. Inst. Ocean. Acad. Cienc. Cuba 55. 36p. 1986

VIANA, Andrea P. et al. Length-weight relations of 70 fish species (actinopterygii) from tropical coastal region of Pernambuco, Northeast Brazil. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 46, n. 3, p. 271, 2016.

RELAÇÃO COMPRIMENTO-PESO E FATOR DE CONDIÇÃO DO CORÓ (*POMADASYS CORVINAEFORMIS*) CAPTURADO NA PESCA DE CURRAL DO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO

Victor Sacramento Dias^{1,2}, Vívian Graziela Oliveira Carneiro¹, David Nunes Aguiar Bruzaca¹, Humber Agreli de Andrade¹

¹Laboratório de Modelagem Estatística Aplicada, Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE, Recife, 52171-900, Brasil; ²Bolsista no Programa de Educação Tutorial PET-Ecologia/UFRPE.
victorecopesca@gmail.com

Resumo

O coró é uma espécie de peixe que ocorre na região tropical do globo, comum na pesca artesanal no nordeste do Brasil, como pesca de curral. Frente a isso, o presente trabalho tem como objetivo estimar os parâmetros da relação comprimento-peso e fator de condição para a espécie *Pomadasys corvinaeformis*. O comprimento padrão médio dos indivíduos amostrados foi de 138,05 mm, com variação de 64,88 a 177,00 mm e maior frequência de 140,00 a 160,00 mm. Os parâmetros estimados para a relação peso comprimento foram ($a = 8.328 \times 10^{-5}$; $b = 2,75$), indicando que os corós apresentam crescimento alométrico negativo. Os valores do fator de condição apresentaram um padrão ao longo do período amostral, com aumento durante os meses de março e queda brusca após o mês de abril. A espécie *Pomadasys corvinaeformis* apresentou declínios significativos no valor do fator de condição próximo ao início do segundo semestre, voltando a crescer no fim do período.

Palavras chave: coró, pesca de curral, relação comprimento-peso, fator de condição

1 Introdução

As estimativas da relação comprimento-peso (RCP) são utilizadas para calcular o peso do indivíduo a partir do comprimento, e vice-versa. É frequentemente utilizada em estudos de crescimento, além de comparações morfométricas entre populações e do fator de condição (VIANNA, 2004). O fator de condição é um importante indicativo quantitativo do bem estar do peixe, o qual reflete as condições alimentares recentes e varia de acordo com o meio ambiente, sexo, idade e alguns fatores individuais da espécie (LE CREN, 1951). Ao realizar comparações, recomenda-se utilizar a RCP a partir de dados coletados na mesma área e em intervalo temporal próximo, para minimizar erros na estimativa do peso (KIMMERER et al., 2005). O conhecimento da relação comprimento-peso de uma espécie fornece informações importantes que podem

auxiliar no manejo e tomadas de decisões para a conservação e proteção das espécies (LIZAMA e AMBRÓSIO, 1999).

OPomadasys corvinaeformis, conhecido comumente como coró, é uma espécie de peixe que ocorre desde o caribe ao litoral sudeste do Brasil, comum na pesca artesanal brasileira (SMITH, 1997). Ele desempenha uma importante função na cadeia trófica marinha, além de atuar como importante componente alimentar das comunidades de pescadores (COSTA et al., 1995; CHAVES; CORRÊA, 2000; GARCIA JR et al., 2010). Os corós ocupam diversos ambientes, desde águas costeiras com fundo consolidado ou arenoso, até locais com um gradiente de profundidade elevado, sendo encontrada em profundidades igual a 50 metros. A espécie é também encontrada em estuários, sendo estes visitados principalmente no período anterior a reprodução. Quanto a alimentação, essa é composta basicamente por pequenos peixes e crustáceos (GINES e CERVIGÓN, 1967; CERVIGÓN, 1993; CHAVES e CORRÊA, 2000). Por estar presente nesse amplo espectro de ambientes, a espécie compõe as capturas de diversas atividades da pesca artesanal, com artes ativas ou passivas, como noarrasto de fundo ou na pesca de curral.

Os currais são armadilhas fixas com varas e arames estrategicamente implantadas no solo, de modo a aprisionar cardumes para dentro de um cercado pelo movimento das marés (PIORSKI et al, 2009). Estruturalmente, este aparelho de pesca é composto por elementos principais e auxiliares (Figura 1). São considerados elementos principais aqueles indispensáveis para o bom funcionamento do curral, tais como a “espia” que conduz os peixes para dentro do aparelho, onde ficam retidos nos “chiqueiros” com a menor possibilidade de escape. Por outro lado, são considerados elementos auxiliares aqueles que podem aumentar a captura, como as “salas” e as “salinhas”(PIORSKI et al, 2009; LUCENA et al., 2013).

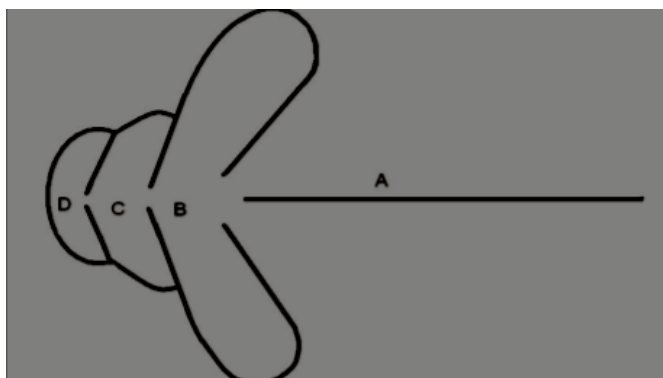


Figura 1 - Ilustração do curral: A (espia), B (sala), C (chiqueiro) e D (chiqueirinho).
FONTE: Lucena *et al.*, 2013.

A fim de fornecer informações que contribuam para eventuais decisões futuras sobre gestão do coró e das pescarias com currais. Foram estimados os parâmetros da relação comprimento-peso e fator de condição para a espécie *Pomadasys corvinaeformis*.

2 Material e Métodos

As coletas foram obtidas mensalmente, entre abril de 2014 e março de 2017 em quatro currais na praia de Pontas de Pedra, localizada no município de Goiana, litoral norte de Pernambuco. Os currais presentes em Goiana contribuem substancialmente para a produção pesqueira local, tornando a pesca de curral uma atividade econômica essencial para o desenvolvimento da região (IBAMA/CEPENE, 2008). Os indivíduos amostrados foram identificados de acordo com Figueiredo e Menezes (1978), preferencialmente in loco, e em seguida foram pesados em balança com precisão de 0,1 g e tiveram o comprimento padrão (CP) medido com paquímetro de 0,02 mm de precisão. Nos casos em que não foi possível efetuar a identificação, os exemplares foram armazenados e resfriados, em seguida foram levados para o laboratório de Modelagem Estatística Aplicada (MOE/DEPAq/UFRPE) para posterior identificação e biometria. Os valores das variáveis que formam a relação comprimento-peso foram estimados de acordo com a equação sugerida por Le Cren (1951):

$$PT = a \times CP^b$$

Onde, “PT” é o peso total, “CP” o comprimento padrão, “a” é o intercepto da curva da regressão e “b” indica a inclinação da curva e também é utilizado como o coeficiente indicador de crescimento alométrico ou isométrico. De acordo com Benedito-Cecílio e Agostinho (1997), se $b = 3$, o crescimento é isométrico, onde o incremento em peso é igual ao comprimento, se $b > 3$, afirma-se que o crescimento é alométrico positivo, havendo um incremento de peso maior do que é feito no comprimento, em último caso, $b < 3$, temos um crescimento alométrico negativo, onde há um maior incremento em comprimento do que em peso. O cálculo do fator de condição alométrico foi feito de acordo com a equação sugerida por Vazzoler (1996):

$$K = \frac{PT}{CP^b}$$

Onde “PT” é o peso total, “CP” o comprimento padrão, “b” é o coeficiente oriundo da relação comprimento-peso.

3 Resultados e Discussão

Foram amostrados 115 corós entre abril de 2014 e março de 2017. O comprimento padrão médio dos indivíduos amostrados foi de 138,05 mm, com variação de 64,88 a 177,00 mm e maior frequência entre 140,00 e 160,00 mm. Tischer e Santos (2003) encontraram corós no litoral sul de Pernambuco, na condição de fauna acompanhante da pesca de camarão, com comprimento médio 119,00 mm, enquanto Viana et al., (2016), em estudo feito para os litorais norte e sul do estado, encontrou indivíduos da mesma espécie, em zona estuarina, com comprimento médio igual a 130,00 mm. Verificou-se, portanto, que independente da região, os comprimentos dos corós giram em torno de 130,00 mm. Quanto ao peso, o valor médio dos corós capturados na pesca de curral foi de 70,25 g, com variação de 6 a 141,00 g e maior frequência entre 60 e 80 g. Os trabalhos supracitados encontraram indivíduos com peso médio de 22,16 g e 31,00 g. A diferença entre os pesos médios provavelmente é reflexo dos diferentes métodos de captura.

Os parâmetros estimados para a RCP no presente trabalho são apresentados na Tabela 1. O coeficiente alométrico (b) indica que os corós capturados apresentam crescimento alométrico negativo, indicando um aumento de peso menor do que o aumento em comprimento. Porém o mesmo não foi encontrado em outros trabalhos que estimaram o coeficiente alométrico para o coró, com a ressalva de que os trabalhos foram realizados em outros ambientes e regiões.

Tabela 1: Parâmetros da relação peso comprimento para o coró (*Pomadasyscorvinaeformis*).

Trabalhos	a	B	R ²	Local
Vaz-dos-Santos e Gris, 2016	$8,432 \times 10^{-5}$	3,11	0,97	São Sebastião - SP
Viana et al., 2016	$5,6 \times 10^{-3}$	3,18	0,98	Barra de Sirinhaém, Itamaracá e Itapissuma - PE
Nosso trabalho	$8,328 \times 10^{-5}$	2,75	0,92	Praia de Ponta de Pedras, Goiana – PE

Apesar de possuir um valor médio superior aos dos estudos citados, tanto para peso quanto para comprimento, a diferença no coeficiente alométrico aponta para diferentes tipos de crescimento. Esses diferentes crescimentos podem ser reflexo das diferentes fases de vida dos indivíduos amostrados (VAZ-DOS-SANTOS e GRIS, 2016).

Para o presente trabalho, o fator de condição apresentou um comportamento contínuo ao longo do período amostral, com aumento acentuado iniciando em novembro e tendo seu ápice em março e queda após o mês de abril (Figura 2). Essa diminuição acentuada no valor do fator de condição indica a necessidade de um grande gasto energético para realização de alguma atividade comportamental cíclica da espécie, como migração e/ou reprodução. Silva e col. (2012) determinaram para a população de corós residentes na praia de Ponta Negra, localizada no município de Natal-RN, o período reprodutivo entre os meses de junho e outubro, coincidindo com os menores valores de K do presente estudo. Porém são necessárias análises mais apropriadas para confirmação da hipótese. Não foram encontrados registros de análise de fator de condição para a espécie durante a revisão bibliográfica.

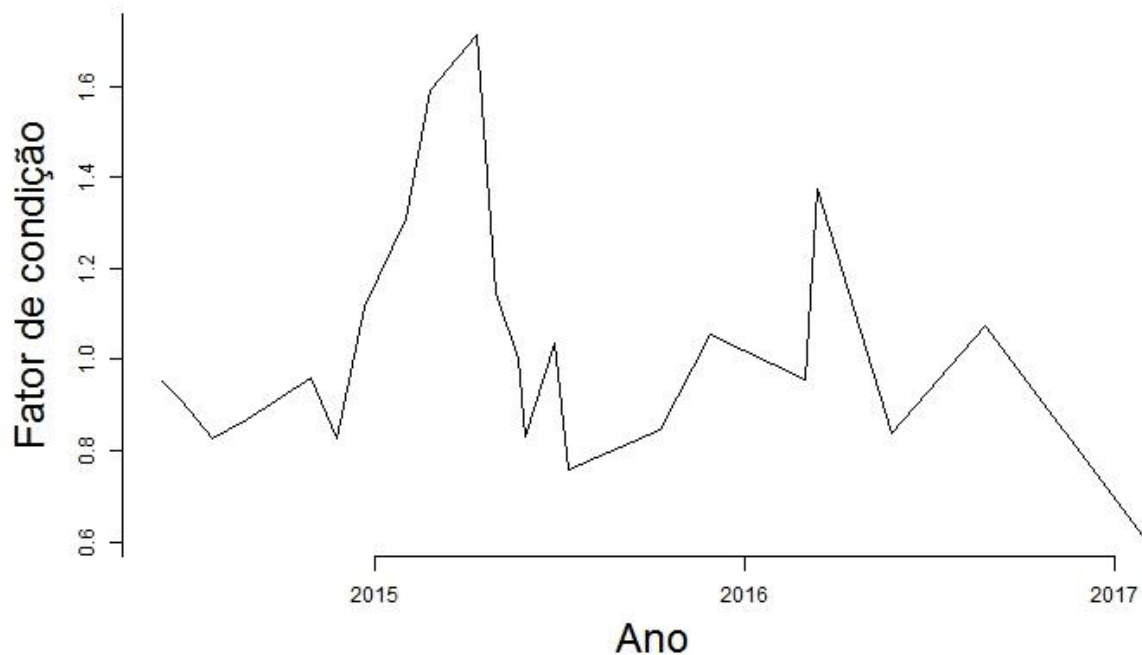


Figura 2: Variação temporal do Fator de Condição da espécie *Pomadasys corvinaeformis*.

Conclui-se que os corós capturados na pesca de curral no litoral norte possuem comprimento e peso médio maiores do que os que os capturados como fauna acompanhante na pesca de camarão realizada no litoral sul, possuindo diferentes formas de crescimento alométrico, além disso, a espécie *Pomadasys corvinaeformis* apresenta declínios significativos no valor do fator de condição próximo ao início do segundo semestre, voltando a crescer no fim do período. Análises reprodutivas são necessárias para atrelar essa informação a períodos reprodutivos.

4 Referências

- CERVIGÓN, F., 1993. Los peces marinos de Venezuela. Volume 2. **Fundación Científica Los Roques**, Caracas, Venezuela. 497 p.
- CHAVES, P.T.C. Estrutura populacional de *Pomadasys corvinaeformis* (Steindachner) (Teleostei, Haemulidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 15, n.1, p. 203 – 209, 1998.
- CHAVES, P.T.C.; CORRÊA, C.E. Temporary use of a coastal ecosystem by the fish, *Pomadasys corvinaeformis* (Perciformes: Haemulidae), at Guaratuba Bay, Brazil. **Revista Brasileira de Oceanografia**, v. 48, n.1, p. 1-7, 2000.
- COSTA, P. S. R.; M.A.M. SANTOS; M.F.A. ESPÍNOLA; MONTEIRO-NETO. J. Biologia e biometria do coró, *Pomadasys corvinaeformis* (Steindachner) (Teleostei: Pomadasyidae), em Fortaleza, Ceará, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v.29, n.1 - 2, p. 20-27, 1995
- GARCIA JR., J., MENDES, L.F., SAMPAIO, C.L.S.; LINS, J.E. Biodiversidade Marinha da Bacia Potiguar: Ictiofauna. **Museu Nacional**: Rio de Janeiro, 2010. p. 195p

GINES, H. AND F. CERVIGÓN, 1967. Exploracion pesquera en las costas de Guyana y Surinam año 1967. Estación de Investigaciones Marinas de Margarita. **Fundación La Salle de Ciencias Naturales**, no. 29.

IBAMA / CEPENE. 2008 Monitoramento da atividade pesqueira no litoral nordestino: **projeto estatpesca. Tamandaré**. 384p.

KIMMERER, W., S.R. AVENT e S.M. BOLLENS. 2005. Variability in length-weight relationship used to estimate biomass of estuarine fish from survey data. Trans. **Am. Fish. Soc.**, 134: 481-495.

LE CREN, E.D. (1951). The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight na condition in the perch (*Perca fluviatilis* L.). **Journal Animal Ecology**. v.20, p.201-219.

LIZAMA, M.L.A.P. e AMBRÓSIO, A.M. (1999). Relação peso-comprimento e estrutura da população de nove espécies da família Characidae na planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 16(3): 779-788.

LUCENA, F. P.; CABRAL, E.; SANTOS M. C. F.; OLIVEIRA, V. S.; BEZERRA, T. R. Q. A pesca de currais para peixes no litoral de Pernambuco. **Boletim Técnico Científico**, CEPENE, 2013. Tamandaré - PE - v. 19, n. 1, p. 93-102.

PIORSKI, Nivaldo Magalhães; SERPA, Sheilla Silva E; NUNES, Jorge Luiz Silva. Análise comparativa da pesca de curral na ilha de são luís, estado do maranhão, brasil. **Arq. ciên mar**, , , 42(1): 65 - 71, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 65-71, 2009

SMITH, C.L., 1997. National Audubon Society field guide to tropical marine fishes of the Caribbean, the Gulf of Mexico, Florida, the Bahamas, and Bermuda. Alfred A. Knopf, Inc., New York. 720 p.

VAZ-DOS-SANTOS, André Martins; GRIS, Bárbara. Length-weight relationships of the ichthyofauna from a coastal subtropical system: a tool for biomass estimates and ecosystem modelling. **Biota Neotrop.**, Campinas , v. 16, n. 3, e20160192, 2016 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-06032016000300502&lng=en&rm=iso>.access on 06 June 2017. Epub Aug 08, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2016-0192>.

VAZZOLER, Anna Emília Amato De Moraes. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática: subtítulo do livro. 1 ed. Maringá - PR: EDUEM, 1996. 169 p.

VIANA, A. P. et al. Length-weight relationships of 70 fish species from tropical coastal region of Pernambuco (Northeast Brazil). **Acta ichthyologica et piscatoria**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 271–277, 2016.

VIANNA, M., F.E.S. COSTA e C.N. FERREIRA. 2004: Lengthweight relationship of fish caught as by-catch by shrimp fishery in the southeastern coast of Brazil. B. Inst. Pesca, São Paulo, 30(1): 81-85.

SILVA, Anairam Medeiros; OLIVEIRA, Mônica Rocha; CHELLAPPA, Sathyabama. BIOLOGIA REPRODUTIVA DO CORÓ, *Pomadasys corvinaeformis* STEINDACHNER (OSTEICHTHYES: HAEMULIDAE) DAS ÁGUAS COSTEIRAS DO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL..**Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, [S.l.], v. 2, n. 2, p. 15-24, dez.

2012. ISSN 2179-5746. Disponível em:
<<https://periodicos.unifap.br/index.php/biota/article/view/468>>. Acesso em: 10 jun.
2017. doi:<http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v2n2p15-24>.

FIGUEIREDO, J. L; N. A. MENEZES. Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil. II. Teleostei(1). **São Paulo, Museu de Zoologia**, Univ. São Paulo, 110. 1978

RESÍDUO DE ANTIBIÓTICO NO LEITE E FORMAS DE IDENTIFICAÇÃO

Tamiris Maria da Silva¹, Dayane de Lima Rocha², Lucilo bioni da Fonsêca Filho³, Lourival Barros de Sousa Brito Pereira⁴, Vitória Yuki Endo⁵, Júlio César dos Santos Nascimento⁶

1 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

2 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

3 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

4 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Maurício de Nassau

5 Discente do curso de Medicina Veterinária em Universidade Federal Rural de Pernambuco

6 Professor em Centro Universitário Maurício de Nassau

Email: mariatamiris92@gmail.com

Resumo

Devido a sua ampla variedade de nutrientes em sua composição, o leite apresenta grande valor de importância na dieta do ser humano. Apesar das leis vigentes que prevêem um leite de boa qualidade, livre de resíduos, sendo estes em sua maioria antibióticos presentes em medicamentos de vacas submetidas a tratamentos de enfermidades, a exemplo a mastite, tem-se com frequência um leite que apresenta número superior referente a quantidade de resíduos previsto em lei, ficando este leite inadequado para o consumo e posto para o descarte. O presente resumo tem por objetivo abordar a importância de se ter um leite de boa qualidade livre de resíduos, e mostrar algumas das medidas tomadas pela indústria do leite para examinar se o leite encontra-se com o número de resíduos aceitável perante a lei ou se está adulterado, ficando desta forma inapropriado para o consumo.

Palavras chave: laticínios, mastite, saúde pública, segurança alimentar

1 Introdução

Por ser rico em proteínas, vitaminas, gordura, carboidratos e sais minerais, o leite é considerado um dos alimentos mais completos, assim, tornando-se uma fonte importante de nutrientes para o homem (MARTINS & ANDRADE, 2008). O Ministério da Agricultura e Pecuária define o leite como, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas.

Behmer define o leite como sendo o produto secretado pelas glândulas mamárias e alimento indispensável aos mamíferos, nos primeiros meses de vida, enquanto não podem digerir e assimilar outras substâncias necessárias a sua subsistência. O leite é produzido a partir de elementos que passam do sangue para as células especializadas da glândula mamária. Durante esse processo, além dos elementos necessários para a formação do leite, podem passar também medicamentos ou drogas veterinárias que foram administrados às vacas para o controle de alguma doença (Embrapa, 2008). A utilização de substâncias como desinfetantes e pesticidas, assim como os antimicrobianos podem ser encontrados no leite quando administrados aos animais ou utilizados no ambiente da fazenda. Os antimicrobianos podem ser administrados aos animais através das vias intramamária, intramuscular, intrauterina, oral e subcutânea.

A ocorrência de resíduos químicos no leite é um assunto com cada vez mais destaque na mídia, se tornando uma grande preocupação para os consumidores, indústrias e produtores. O leite contaminado por substâncias químicas é considerado adulterado e impróprio para o consumo e industrialização, pois afeta o processamento dos derivados lácteos como queijo e demais produtos fermentados (RUELA et al., 2005). Na indústria, os resíduos de antibióticos podem causar diversos problemas tecnológicos; como, por exemplo, a inibição da atividade de cultura a starter na produção de iogurte e leite fermentado. Outra consequência importante se refere às indústrias que utilizam bactérias ácido-láticas. Onde normalmente ocorre a inibição das culturas lácteas utilizadas na produção de iogurtes, queijos e outros produtos derivados, dificultando a produção dos mesmos ou alterando sua qualidade, outros problemas incluem a formação de odores desagradáveis na manteiga e no creme de leite (MARTINS & ANDRADE, 2008).

A sua presença, ainda que em níveis baixos, pode causar problemas de saúde aos consumidores. Para o ser humano, a presença de resíduos de antibióticos pode levar à seleção de cepas bacterianas resistentes, desequilíbrio da microbiota intestinal, efeitos teratogênicos, reações de hipersensibilidade e inibição da multiplicação bacteriana com redução da carga microbiana em análises laboratoriais (FOLLY & MACHADO, 2001).

Um fato importante, é que os tratamentos térmicos que são aplicados ao leite como a pasteurização, fervura e até mesmo a esterilização, que é um tratamento a ultra alta temperatura destroem os resíduos de antimicrobianos presentes no leite (TRONCO, 2003).

Devido à importância econômica e em termos de saúde pública, a Organização Mundial da Saúde e a FAO (Fundo das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura), através do Codex Alimentarius, estabelece limites máximos de resíduos (LMR) de antibióticos nos alimentos. No Brasil, o Ministério da Saúde (MS), por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece os limites máximos de resíduos de medicamentos veterinários, pesticidas, contaminantes e aditivos em alimentos, seguindo padrões estabelecidos pelo Codex Alimentarius (ANVISA, 2006). O MS e a ANVISA, em trabalho conjunto com o MAPA, criaram o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal que através de um programa de amostragem e análise em laboratórios credenciados fiscaliza a presença de resíduos de várias drogas nos alimentos.

2 Importância na saúde-pública

A presença de resíduos de antimicrobianos no leite e produtos lácteos ingeridos pelos consumidores pode desencadear problemas alérgicos em indivíduos sensíveis, efeitos tóxicos e carcinogênicos, alterações no equilíbrio da microbiota intestinal e seleção de bactérias resistentes no trato intestinal dos consumidores (FOLLY & MACHADO, 2001). A resistência bacteriana acontece devido a fenômenos relacionados à formação de cepas não sensíveis aos antibióticos, tendo a capacidade de se multiplicar mesmo na presença de concentrações de antimicrobianos mais elevadas do que as doses terapêuticas convencionais e ocorre em decorrência da evolução natural dos micro-organismos, além do uso descontrolado e irracional destes agentes nas práticas médicas, agrárias e veterinárias (HOEFLER et al., 2006). Deve-se considerar que o fator idade do usuário é extremamente relevante em relação a algumas das reações adversas aos antibióticos, portanto, a presença destes resíduos no leite, que é consumido principalmente na infância, assume particular importância. Também devem ser considerados os riscos ocasionados pelo consumo de leite contendo resíduos de antimicrobianos por gestantes. Algumas destas substâncias têm potencial teratogênico, como os metronidazóis, a rifampicina e o trimetoprim; outros, como a estreptomicina, apresentam ototoxicidade, e as tetraciclinas podem determinar alterações no desenvolvimento ósseo fetal (COSTA, 1999).

3 Métodos de triagem e quantificação de resíduos de antimicrobianos no leite

A detecção dos resíduos de antimicrobianos pode ser feita por testes indiretos e diretos, sendo os diretos os mais utilizados. A maioria dos testes disponíveis no mercado são qualitativos, sendo classificados como testes de triagem. O teste de triagem deve fornecer uma indicação segura e confiável da ausência ou presença de resíduos na amostra avaliada. Ou seja, permitem com precisão indicar se uma substância está ou não em concentrações acima do limite de segurança para cada antibiótico (SANTOS, 2003). Existem vários métodos utilizados como teste de triagem, que atuam inibindo o crescimento microbiano, como receptores de medicamentos, que promovem a ligação à proteínas, teste de ELISA, enzimáticos e outros que promovem aglutinação em látex (SANTOS et al., 2011). Atualmente, para a análise de resíduos de antibióticos, vários métodos estão disponíveis no mercado, porém, o método mais comum para a triagem tem sido o teste de inibição do crescimento microbiano (KATIANI et al., 2009).

Os principais testes utilizados no método de inibição do crescimento incluem o Delvotest® SP-NT, CMT COPAN®, Eclipse® 100, Delvotest® Accelerator, CharmCowside®, dentre outros. O kit Delvotest® SP-NT, surgiu no mercado em 1974 e foi reconhecido pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) em 1982, com um limite de detecção de penicilina de 0,07 UI penicilina/mL. Este teste tem apresentado confiabilidade, possuindo largo espectro de inibição microbiana na detecção de resíduos de antibióticos, é de fácil utilização e gera resultados em torno de 3h, sendo um período relativamente curto. (SANTOS et al., 2011).

O princípio do Delvotest® SP-NT é baseado na multiplicação do micro-organismo, na diminuição do pH do leite e na alteração de cor do indicador. O teste contém um kit de ampolas contendo esporos do *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, nutrientes e indicador de pH (púrpura de bromocresol). A interpretação do teste se dá a

partir da observação da coloração, a amostra é considerada positiva no teste quando não for possível observar o desenvolvimento do micro-organismo, ou seja, a amostra permanece na cor violeta-púrpura. É considerado como negativo quando a solução adquire uma coloração amarela, indicando a presença e o desenvolvimento de micro-organismos, pois, a modificação da cor do indicador ocorre devido à redução de pH.

O Delvotest® SP-NT permite a detectar cinco classe de antibióticos, são elas: Beta-lactâmicos, Sulfonamidas, Tetraciclina, Macrolídeos, Aminoglicosídeos e outros como a Trimetoprima e Dapsona. O teste Charm-SL quando comparado ao método anteriormente citado, detecta menos classes de antimicrobianos, possibilitando apenas a detecção de resíduos de Tetraciclina e Beta-lactâmicos, o kit Delvotest® SP-NT permite detectar após o tempo de leitura de três horas, 800ppb de oxitetraciclina, 800ppb de tetraciclina e 800ppb de clortetraciclina.

Entretanto, são recomendadas técnicas analíticas com maior sensibilidade e especificidade para a identificação e quantificação dos resíduos de antibióticos presentes em produtos de origem animal, uma dessas técnicas é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE (MAMANI, 2009). Para se realizar a fiscalização e o monitoramento eficiente dos níveis desses resíduos nos produtos de origem animal, são necessários métodos analíticos validados que possam garantir a segurança e confiabilidade dos resultados obtidos (RUELA et al., 2005). A CLAE é considerada uma técnica de bastante eficácia, pela sua rapidez e confiabilidade. Além disso, apresenta alta sensibilidade para a análise de resíduos de antimicrobianos, sendo possível realizar a confirmação, identificação e quantificação dos antimicrobianos presentes na amostra analisada (GOTO et al., 2005; SCHNEIDER et al., 2007).

4 Conclusão

Conclui-se que o uso de antibióticos em animais de produção deve ser realizado com bastante cautela visto os problemas que podem vir acarretar na saúde pública e ambiental. E para isto, recomendações podem ser feitas ao produtor a fim de se evitar a presença de resíduos de antibiótico no leite, e estas vão desde o manejo do animal de forma a prevenir doenças que necessitem o uso de antibióticos, e se necessário o uso de antibióticos, instruir os funcionários sobre uso correto do medicamento nos animais alertando-os também da importância de se respeitar o período de carência da droga para se obter um leite de qualidade e sem risco à saúde dos consumidores deste leite.

5 Agradecimentos:

A todos que de alguma maneira me ajudaram com o presente trabalho fica registrado aqui o meu breve obrigado.

6 Referências:

- BRITO, M. A. V. P.; LANGE, C. C. Resíduos de antibióticos no leite. **Comunicado Técnico**. n. 44. Juiz de Fora: Embrapa, p.4, 2005.
- COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S.L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2. ed. Rio

de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

FOLLY, M.M.; MACHADO, S. da C.A. Determinação de resíduos de antibióticos, utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimático e imuno-ensaios no leite pasteurizado comercializado na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, n.1, p.95-98, 2001.

GOTO, T.; ITO, Y.; YAMADA, S.; MATSUMOTO, H.; OKA, H. **Journal of Chromatography A**, v.1100, p.193, 2005.

HOEFLE, R.; VIDOTTI C. C. F.; MENEZES, E. S.; PINHEIRO, S. Ações que estimulam o uso racional de antimicrobianos. **BolFarmacot**, v.11, p.1-4, 2006.

KANTIANI, L.; FARRE, M.; BARCELO, D. Analytical methodologies for the detection of b-lactam antibiotics in milk and feed samples. **Trends Analytical Chemistry**, v.28, n.6, p.68-71, 2009.

MAMANI M. C. V; REYES F. G. R; RATH S. Multiresidue determination of tetracyclines, sulphonamides and chloramphenicol in bovine milk using HPLC-DAD. **Food Chemistry**, 117:545–2. 2009.

MARTINS, P.F; ANDRADE, H.V. Identificação de resíduos de antibióticos na recepção de leite cru pré-beneficiado como perigo potencial para implementação do plano APPCC em laticínios. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 8, p. 108-114, 2011.

RUELA A. C. I.; LIMA, A. J.; SOUZA, V. C. S.; JUNQUEIRA, G. R. Otimização e validação de método para determinação de resíduos de oxitetraciclina, tetraciclina e clortetraciclina em leite por cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p.139-146, 2005.

SANTOS, S. F. A.; DUARTE, R. M. K.; POZZI, R. C. Detecção de resíduos de antimicrobianos no leite. **Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, São Paulo, v.13, n.3: p.205-12, 2011.

TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da qualidade do leite**, 2 ed. Santa Maria: UFSM, p.192.2003.

RESÍDUOS ANTIPARASITÁRIOS NO LEITE E SEUS IMPACTOS

Anny Karoliny dos Santos Vasconcelos¹; Joyci Torres d'Paula¹

1Centro Universitário Maurício de Nassau – UNINASSAU

annykarol1996@hotmail.com

Resumo

O presente trabalho tem por objetivo reunir informações sobre os resíduos antiparasitários presentes no leite, além de esclarecer quais os principais impactos. Os medicamentos veterinários são utilizados em animais produtores de alimentos para promover o crescimento, controlar pragas, tratar e prevenir as enfermidades, mas pode deixar resíduos nos alimentos, como carne, leite e ovos, cujos níveis não devem ultrapassar o Limite Máximo de Resíduos (LMR). Dentre os principais usados na pecuária leiteira temos os antiparasitários (avermectinas, piretróides e organofosforados), que quando são administrados de maneira indevida podem deixar resíduos potencialmente perigosos no leite e nos derivados lácteos. A contaminação de alimentos de origem animal por resíduos de medicamentos veterinários é preocupante para a Saúde Pública, podendo desencadear reações de hipersensibilidade, alergia, ação carcinogênica ou mutagênica, além de alterar as características e propriedades do leite trazendo prejuízos às indústrias.

Palavras chave: drogas veterinárias, lácteos, parasitocidas.

1 Introdução

A produção de leite no Brasil vem crescendo nos últimos anos em aproximadamente 5,8% ao ano, devendo o país gerar mais divisas através da exportação de produtos para o comércio internacional. Mas para exportar, é necessário que o país seja competitivo no mercado internacional, sendo que isto somente acontecerá por meio da melhoria da qualidade dos produtos, o que depende principalmente da fonte de produção, que precisará produzir uma matéria prima de qualidade. A ausência de resíduos de drogas veterinárias é um dos requisitos para obter um produto de qualidade (GOMES, 2005).

Medicamentos veterinários são utilizados para promover o crescimento, controlar pragas, tratar e prevenir as enfermidades do gado leiteiro, quando são administrados de maneira indevida, sem respeitar as indicações dos receituários e os períodos de carência, pode deixar resíduos potencialmente perigosos no leite e nos derivados lácteos (FERREIRA, 2012).

O uso de medicamentos veterinários em animais produtores de alimentos pode deixar resíduos nos alimentos, cujos níveis não devem ultrapassar o Limite Máximo de Resíduos (LMR) (PACHECO-SILVA, 2014). Dentre os mais utilizados temos os antibióticos (beta-lactâmicos, aminoglicosídeos e tetraciclinas) e os antiparasitários (avermectinas, benzimidazóis, piretróides e organofosforados) (SILVA, 2015).

O presente trabalho tem por objetivo reunir informações sobre os resíduos antiparasitários presentes no leite, além de esclarecer quais os principais impactos.

2 Antiparasitários

As parasitoses geralmente causam alterações digestórias, atrasos no crescimento e até anemia no animal, afetando a sua produtividade e, conseqüentemente, gerando prejuízos aos produtores, como forma de contenção de gastos, buscam antiparasitários que sejam capazes de destruir a maior gama possível de parasitas. Os antiparasitários estão divididos em dois grandes grupos: os antihelmínticos e os antiprotozoários. Os mais utilizados por veterinários são: as avermectinas, os benzimidazóis, os piretróides e os organofosforados (SILVA, 2015).

As avermectinas e os benzimidazóis são os medicamentos veterinários mais usados na pecuária atualmente; as avermectinas apresentam caráter lipofílico e são monitoradas no tecido adiposo e fígado. É contraindicado o uso de ivermectina e doramectina em bovinos produtores de leite para consumo humano, entretanto, estes medicamentos têm sido encontrados em amostras de leite (PACHECO-SILVA, 2014).

O tratamento dos animais com antiparasitários internos e externos implica no estabelecimento do tempo de carência para o consumo dos produtos obtidos do mesmo, isto é, leite e carne, para que a droga administrada seja totalmente eliminada (GOMES, 2005).

3 Resíduos de antiparasitários no leite

A presença de resíduos de produtos de uso veterinário no leite está relacionada principalmente a não observação do período de carência dos produtos utilizados em vacas ordenhadas, com envio do leite com resíduos para consumo humano (PICININ, 2013). Período de carência é o prazo de espera para que ocorra a eliminação do fármaco do organismo do animal, após a última aplicação, sem que permaneça resíduo do medicamento acima do LMR permitido, até o momento em que os tecidos ou produtos provenientes dos animais medicados possam ser ingeridos pelo ser humano; que varia de acordo com a formulação medicamentosa, com a via de administração e com a espécie de animal tratada (SILVA, 2015).

Segundo Ferreira (2012), em estudo observou-se que das 10 publicações que registraram dados de monitoramento de resíduos de antiparasitários, 7 (70,0%) apresentaram dados sobre a ocorrência de resíduos de ivermectina. Destas, apenas 3 (30,0%) mostraram a ocorrência de abamectina e 4 (40,0%) apontaram a presença de resíduos de doramectina.

Nos dois primeiros anos do Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos - PAMVet (2002/2003) foram coletadas 750 amostras de leite, (87% UHT e 13% de leite em pó). No total, 150 amostras continham resíduos de avermectinas (abamectina, doramectina e/ou ivermectina), representando 48% das 312 amostras analisadas para avermectinas. A ivermectina foi o resíduo mais encontrado (123 amostras), todas com resíduos abaixo do LMR. Abametina ou doramectina foram encontradas em 23 amostras, sendo consideradas insatisfatórias devido à ausência de

LMR estabelecido na época. Em 19 amostras, houve a detecção simultânea de abamectina e ivermectina. Esses resultados confirmam o uso de avermectinas em animais em lactação (ANVISA, 2005; PACHECO-SILVA, 2014).

No período 2006/2007 foram analisadas 615 amostras (77,2% UHT e 22,8% em pó). Como nos anos anteriores, as avermectinas foram os medicamentos mais detectados nas amostras de leite, com percentuais menores de amostras positivas em 2009/2010 (Figura 1). Ivermectina foi o resíduo mais encontrado nas amostras, correspondendo, em média a 82% dos resíduos de avermectinas encontradas nas amostras nos dois períodos. Resíduos de doramectina corresponderam a cerca de 10% dos resíduos do grupo (ANVISA, 2009; PACHECO-SILVA, 2014).

Quanto aos impactos relacionados à indústria de laticínios, as substâncias antiparasitárias podem acarretar problemas no processamento tecnológico de derivados do leite (FERREIRA, 2012); para o rebanho leiteiro, existem diversas restrições para o uso em vacas durante a lactação pela eliminação e persistência geralmente prolongada do produto no leite, como é o caso do levamisole e mebendazole (PICININ, 2013).

As avermectinas, por exemplo, possuem largo espectro de atividade em doses baixas e sua alta lipossolubilidade favorece a deposição no local de aplicação por via subcutânea, prolongando seu tempo de permanência no organismo. As concentrações nos fluidos orgânicos podem permanecer por longos períodos e se acumular no leite, podendo ocorrer o risco de ingestão pelos consumidores (FERREIRA, 2012).

Quanto aos impactos referentes à saúde pública, assim como os antimicrobianos, os principais efeitos toxicológicos causados por resíduos de antiparasitários são: reações alérgicas, náusea e vômito; além de possível resistência parasitária, causando redução da eficácia desses fármacos (SILVA, 2015). Os piretróides causam efeitos neurotóxicos, como tremores, hiperatividade, irritação, aumento da temperatura corpórea, salivação excessiva, diarreia, midríase, entre outros (PICININ, 2013).

4 Legislação

No Brasil, há dois programas nacionais que monitoram a presença de resíduos de medicamentos veterinários em produtos de origem animal. O Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) é coordenado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que inclui programas setoriais para análise de carne, leite, ovos, mel e pescado; e o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos (PAMVet), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), analisa leite UHT, leite em pó e leite pasteurizado (PACHECO-SILVA, 2014).

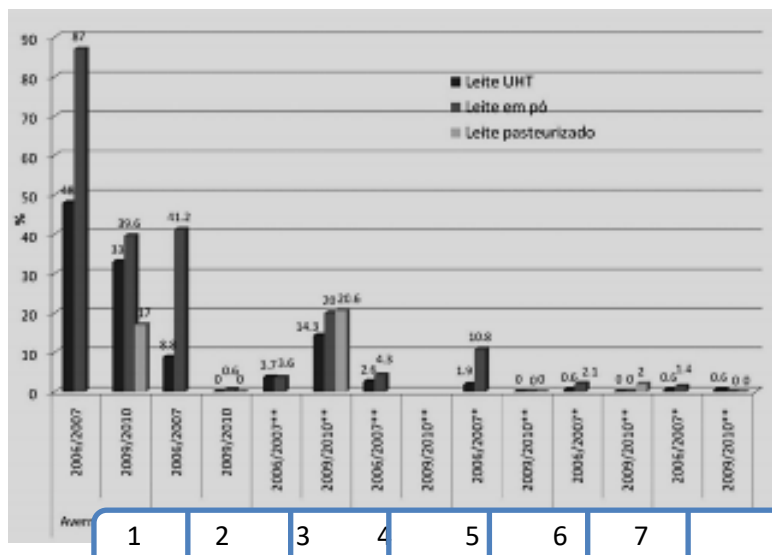
A administração de antiparasitários deve respeitar ao LMR, é a concentração máxima de resíduo em um alimento de origem animal resultante do uso de um medicamento veterinário; estes limites são estabelecidos para garantir o uso adequado destes produtos, limitar a exposição e proteger a saúde dos consumidores dos alimentos provenientes de animais tratados. O Brasil não estabelece LMR para medicamentos veterinários, adotando aqueles recomendados pelo Mercosul (PACHECO-SILVA, 2014). Para aqueles medicamentos veterinários cujos valores de LMR não estão estabelecidos no Mercosul, tomaram-se por base as referências internacionais na

seguinte ordem: Codex Alimentarius, União Européia (EU) e Food and Drug Administration (FDA) (ANVISA, 2006).

Entretanto, o MAPA a partir da IN nº 13 de 29 de maio de 2014, proíbi a fabricação, manipulação, fracionamento, comercialização, importação e uso de produtos antiparasitários de longa ação que contenham como princípios ativos as lactonas macrocíclicas (avermectinas) para uso veterinário (BRASIL, 2014).

Como forma de prevenção, controle e monitoramento de resíduos em leite, para garantir a segurança tecnológica e alimentar faz-se necessário o desenvolvimento de um sistema integrado de boas práticas para prevenção e controle de resíduos em alimentos. As propriedades rurais têm, portanto, a responsabilidade primária de eliminar o leite contaminado; as indústrias de analisar o leite que chega das propriedades e aquele em processamento; assim como, a inspeção governamental de realizar suas próprias análises como método de controle, verificação e ação fiscal dos demais controles internos sob-responsabilidade das empresas, com dever de garantir e promover a saúde do consumidor final (PICININ, 2013).

Com base na literatura, conclui-se que os resíduos de antiparasitários de maior ocorrência no leite, com concentrações acima do LMR, são abamectina, doramectina e ivermectina, devido serem utilizados intensivamente e inadequadamente. Quanto aos principais impactos causados pela presença de resíduos no leite temos as reações de hipersensibilidade, ação carcinogênica ou mutagênica, efeitos neurotóxicos, resistência parasitária, além de trazer prejuízos às indústrias por alterar as características/propriedades do leite acarretando problemas no processamento tecnológico de derivados.



1Avermectina; 2 Sulfonamida; 3 EStreptominica; 4 Neomicina; 5 Tetraciclina; 6 Betalactâmicos; 7 Anfenicóis

2006/2007 e 2009/2010. * resultado confirmado; ** triagem. (Fonte: PACHECO-SILVA, 2014).

5 Referências

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Relatório PAMVet, 2005

Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal – PAMVet. Relatório 2002/2003 - Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo (1º e 2º anos de atividades). Disponível em: www.anvisa.gov.br; Acessado em: 05 de abril de 2017.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Relatório PAMVet, 2006. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal – PAMVet. Relatório 2004/2005 - Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo. Disponível em: www.anvisa.gov.br; Acessado em: 05 de abril de 2017.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Relatório PAMVet, 2009. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal – PAMVet. Relatório 2006/2007 - Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo. Disponível em: www.anvisa.gov.br; Acessado em: 05 de abril de 2017.

BRASIL. 2014. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa No. 13, de 29 de maio de 2014. Diário Oficial da União de 30 de maio de 2014. Brasília (Brasil).

FERREIRA, R. G., SPISSO, B. F., HORA, I. M. D. C. D., MONTEIRO, M. A., PEREIRA, M. U., COSTA, R. P. D., & CARLOS, B. D. S. 2012. Panorama da ocorrência de resíduos de medicamentos veterinários em leite no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, 19(2): 30-49.

GOMES, M. F. 2005. Avaliação da eficiência de "kits" destinados à detecção de resíduos de antimicrobianos em leite de vacas tratadas com ivermectina e abamectina. Dissertação de Mestrado, UFMG, Belo Horizonte.

PACHECO-SILVA, E., SOUZA, J., & CALDAS, E. D. 2014. Resíduos de medicamentos veterinários em leite e ovos. *Química nova*, 37(1), 111-122.

PICININ, L. C. A. 2013. Resíduos de produtos de uso veterinário e contaminantes em leite. Tese de Doutorado. UFSC, Florianópolis.

SILVA, B. C. U. 2015. Resíduos de antibióticos e antiparasitários em alimentos de origem animal. Trabalho de conclusão de curso, UNESP, Araraquara.

SORODIAGNÓSTICO DE ANTICORPOS IgG ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM CÃES ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFRPE

Rafael Thiago Pereira da Silva¹, Elaine Lidia da Silva², Adrienne Mota de Alcântara¹, Jonatas Campos de Almeida¹, Rinaldo Aparecido Mota¹.

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

Rafael_thiagoh@hotmail.com

Resumo

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário de distribuição mundial que acomete animais homeotérmicos. Apenas os felídeos são os hospedeiros definitivos no ciclo da toxoplasmose. O cão adquire a infecção tanto ingerindo oocistos esporulados, como pela ingestão de cistos teciduais através de carnivorismo. Posto isto, o objetivo desta pesquisa foi investigar através da técnica de aglutinação modificada – MAT, a presença de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em amostras sanguíneas de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE no ano de 2013. Com isto, foi constatada a ocorrência de 33,75% de animais soropositivos (27/80), sendo 48,1% das fêmeas (13/27), 51,8% machos (14/27), 3,70% da zona rural (1/27) e 96,29% da zona Metropolitana do Recife (26/27). Estes resultados possibilitaram observar uma forte tendência a soropositividade em cães residentes da zona metropolitana do Recife, indicando a exposição ao agente em um dos maiores polos urbanos de Pernambuco.

Palavras chave: Sorod diagnóstico, Epidemiologia, Saúde animal, Saúde pública, Toxoplasmose.

1. Introdução

Toxoplasma gondii é um protozoário coccídeo intracelular de distribuição global, é o agente infeccioso da toxoplasmose (SHERDING, 1998). Os felídeos são os únicos animais em que o protozoário pode completar o seu ciclo, são considerados hospedeiros definitivos. Em outras espécies animais, incluindo o homem, ocorre apenas a fase assexuada do parasito, classificando-os como hospedeiros intermediários. Desta forma, a doença é entendida como uma zoonose (DUBEY, 1998).

A toxoplasmose em cães imunocompetentes geralmente ocorre de forma assintomática. Mas quando há manifestações clínicas da doença, ocorre de forma mais severa em filhotes ou em animais imunocomprometidos. Os sintomas podem incluir sinais de infecções respiratórias, digestivas, oculares e sintomas neuromusculares, principalmente em co-infecções com o vírus da cinomose canina (FERREIRA et al., 2016). Os órgãos que são comumente acometidos são os pulmões, fígado e cérebro (BRESCIANI et al., 2008).

A soroprevalência é uma alternativa muito eficaz na avaliação da disseminação de *T. gondii*, pois através da triagem sorológica é possível identificar animais com a

infecção. A sorologia é um método diagnóstico exequível, simples e economicamente viável sendo majoritariamente recomendados na investigação epidemiológica desta zoonose (ZHANG et al., 2001).

O numero de animais reagentes permite avaliar a frequência de uma população de cães que apresentam anticorpos específicos no soro sanguíneo (GONÇALVES et al., 2006). Estes animais sororeagentes, atuam como sentinelas, uma vez que estes estão expostos a riscos similares ao ser humano para a infecção toxoplásmica. A soropositividade ao *T. gondii* em cães é relativamente alta em no país, variando de acordo com a região estudada e/ou técnica diagnóstica empregada (FIGUEREDO et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi investigar a presença de anticorpos IgG anti-*T. gondii* através da técnica de aglutinação modificada- MAT, nos cães atendidos no Hospital Veterinário do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE (HOVET/DMV/UFRPE).

2. Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Hospital Veterinário do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE (HOVET/DMV/UFRPE), Recife, PE. Ascoletas das amostras sanguíneas foram realizadas no ano de 2013. 80 cães (42 machos e 38 fêmeas) foram submetidos à coleta e avaliados para variáveis relacionadas ao sexo e condição domiciliar do animal.

Para a coleta de amostras de sangue, os animais foram contidos fisicamente e foram coletados 5mL de sangue da cada animal por meio de venopunção da jugular. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1800 rpm por 10 minutos para a obtenção do soro. As alíquotas de soro foram armazenadas em microtubo (tipo: *eppendorf*) e congeladas em temperatura de -20°C até o momento das análises.

As amostras do soro foram descongeladas, homogeneizadas em vórtex e diluídas em PBS 1x (PH 7,2, 8g de NaCl, 0.2g de KCl, 1.44g Na_2HPO_4 e 0.24g de KH_2PO_4) em microplaca de fundo reto. O ponto de corte usado foi 1:25 (MARQUES et al, 2009).

Para o preparo da solução do antígeno foram utilizados 2,5 ml PBS contendo BSA 4%, 100 μl do antígeno, 50 μl de azul de Evans 10 % e 35 μl de 2-mercaptoetanol. Para a realização do MAT foi utilizado como antígeno taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH na concentração de $2,5 \times 10^8$. Os testes foram realizados em uma outra microplaca, a de fundo em U. Foram acrescentados controles positivos e negativos para assegurar a qualidade da reação. A placa foi selada com Parafilm® acondicionada em câmara úmida fechada e incubada a 37°C por 16 horas.

Foram consideradas positivas as amostras de soros que apresentaram a formação de um tapete, uma malha ou película com abrangência de, pelo menos, 50% da área da cavidade da microplaca. A aglutinação do antígeno e consequentemente a formação do botão compacto no fundo da placa, com menos de 50% da área da cavidade da microplaca foi considerada como reação negativa (DESMONTS, REMINGTON, 1980).

3. Resultados e Discussão

No Brasil, as pesquisas de anticorpos anti-*T.gondii* relatam uma soroprevalência que varia entre 17,30% a 94,00%. (BRITO et al., 2002).

No presente estudo foi encontrada uma prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* de 33,75% (27/80), 48,1% das fêmeas (13/27) e 51,8% dos machos (14/27), Sendo 3,70% (1/27) da zona rural e 96,29 % (26/27) da zona Metropolitana do Recife.

O número de cães com anticorpos reagentes para *T. gondii* foi moderado, tal qual os resultados obtidos por Costa et al. (2012), Dubey et al. (2007) e De Sousa et al. (2003) que também utilizaram o MAT em suas metodologias de triagem, encontrando percentuais de positividade iguais a 40,00%, 35,8,% e 34,3% respectivamente. Entretanto, foi superior àquelas encontradas por ROMANELLI et al. (2007); Lopes et al. (2011) e De Moura et al. (2009) os quais obtiveram frequências de 20,80%, 18,00% e 18,5,00% utilizando a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). A amostragem tanto para MAT como Para RIFI foram trabalhadas em diferentes estados do país.

O sertão de Pernambuco apresenta uma prevalência de 57,6% de animais reagentes. Já na cidade de Garanhuns e Amaraji, apresentaram 54,4% e 64.1% respectivamente (FIGUEIREDO et al, 2008). Na ilha de Fernando de Noronha, a prevalência é de 40 %. (COSTA et al., 2012). Essas variações nos valores de prevalência ocorrem devido a características regionais geo-climáticas e fatores epidemiológicos, como números de felinos infectados na área estudada, a idade, cuidado com animais, aspectos culturais e práticas sanitárias na comunidade (LANGONI et al., 2006).

Este fato é justificado pela igualdade de condições de risco que estão submetidos tanto os machos quanto as fêmeas da espécie canina (SANT et al., 2014). De acordo com BRITO et al. (2002), a soroprevalência é variável e relativamente alta, principalmente em cães habituados a comer carne crua e que vivem em ambientes que seja facilitado o acesso do animal a tal tipo de alimento. As principais vias de transmissão e fontes de infecção estão relacionadas a ingestão de oocistos do meio ambiente, bradizoítos encistados em tecidos de hospedeiros intermediários ou, ainda, taquizoítos presentes no interior das células imunes localizados em líquidos cavitários (TENTER et al. 2000).

Fatores como o custo relativamente baixo, a facilidade e rapidez de execução do MAT, tornam o teste muito útil para a rotina, especialmente quando é impossível usar técnicas de alto desempenho (FRANCO et al, 2003). O MAT apresenta sensibilidade de 85,00% e especificidade de até 100,00% (COLA et al, 2010; FRANCO et al, 2003), detectando apenas IgG circulantes no sangue e excluindo antilubulinas da classe IgM de serem evidenciadas na reação, pois a presença do 2-mercaptoetanol inativa estes pentâmeros, tanto específicos como inespecíficos (CAPEL et al., 1980). Sendo assim, com a metodologia utilizada não foi possível afirmar se a infecção apresentava um caráter agudo ou crônico nos animais positivos, pois o método apenas detecta anticorpos IgG podendo levar a resultados falso-negativos durante os primeiros estágios da infecção aguda (Sant et al., 2014).

A continuidade das pesquisas no acompanhamento da soroprevalência em animais sentinela é fundamental para o direcionamento de intervenções cabíveis a níveis de saúde pública, uma vez que é compreendendo o nível da participação do cão na cadeia epidemiológica da doença.

4. Conclusão

Baseado nos resultados obtidos, conclui-se que há dispersão do parasito na região e no período estudado, revelando aspectos de relevância quanto à saúde pública. Os resultados reforçam, ainda, o papel do cão como animal sentinela na disseminação da toxoplasmose, istofavorece o monitoramento da doença e implica diretamente na elaboração de ações adequadas empolíticas públicas de saúde,visando sobre tudo,conter a propagação desta zoonose, deste modo garantindo a qualidade de vida da população de um determinado território.

5. Agradecimentos e apoios

Ao hospital veterinário, ao laboratorio e a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, sou muito grato a todos. Aprendi muito com o grupo de pesquisa e quero poder continuar aprendendo por muitos e muitos anos. Muito obrigado!

6. Referências

- BRESCIANI, K.D.S.; COSTA, A.J.; NAVAROO, I.T.; TONIOLO, G.H.; SAKAMOTO, C.A. M.; ARANTES, T. P.; GENNARI, S. M. Toxoplasmose canina: aspectos clínicos e patológicos. *Ciências Agrárias*, Londrina, v. 29, n. 1, p. 189-202, jan./mar. 2008.
- BRITO, A. F.; SOUZA, L. C.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Epidemiological and Serological Aspects in Canine Toxoplasmosis in Animals with Nervous Symptoms. *Memórias do InstitutoOswaldo Cruz*, v.97, n. 1, p. 31-35, 2002.
- CAPEL, P. J. A.; OERLAG, P. G. G.; HAOEMANN, J. F. H. M.; KOENE, R .A. P. THE EFFECT OF 2-MERCAPTOETHANOL ON IgM AND IgG ANTIBODY ACTIVITY. *JournalofImmunologicalMethods*, North-Holland, v. 36, p. 77-80, 1980.
- COLA, G. A.; GARCIA, J. J.; COSTA, L.; RUFFOLO, B.; NAVARO, I. T.; FREIRE, R. L. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do teste de aglutinação modificado na detecção de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em ratos. *Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 3, p. 717-722, jul./set. 2010.
- COSTA D. G. C.; MARVULO, M. F. V.; SILLVA, J. S. A.; SANTANA, S. C.; MAGALHAES, F. J. R. LIMA FILHO, C. D. F.; RIBEIRO, V. O.; ALVES, L. C.; MOTA, R. A., DUBEY, J.P.; SILVA, J. C. R. Seroprevalenceof*Toxoplasma gondii*in domesticandwildanimalsfromthe Fernando de Noronha Brazil. *JournalofParasitology*, 98, 3, 679- 80, 2012.
- DE MOURA, A. B.; DE SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.;BELLATO, V.; TEIXEIRA, E. B.; PISETTA, G. M.; HEUSSER, A. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii*em cães nas cidades de Lages e Balneário Camboriú Santa Catarina Brasil. *RevistaBrasileira de ParasitologiaVeterinária*. v. 18, n 3, p. 52-56, 2009.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J. S.; Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol* v. 11, p.562-568, 1980.

DE SOUZA S.L.P.; GENARI, S. M.; YAI, L. E. O.; D'AURIA, S. R. N.; CARDOSO, S. M. S.; GUIMARÃES, J.S., DUBEY, J. P. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from dogs of the urban and rural areas from Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n.1, p. 1-3, 2003.

DUBEY, J. P Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *International Journal Parasitology*, v. 28, p. 1019-1024, 1998.

DUBEY, J. P. et al. Diverse and atypical genotypes identified in *Toxoplasma gondii* from dogs in São Paulo, Brazil. *Journal of Parasitology*, v. 93, n. 1, p. 60-64, 2007.

FIGUEREDO, L. A; TORRES, F. D.; FARIA, E. B.; GODNDIM, L.F.P.; MATTOS, L. S.; FILHO, S. P. B.; MOTA, R.A. Occurrence of antibodies to *Neosporacanthium* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Veterinary Parasitology*.v, 157 p. 9–13, 2008.

FRANCO, W. A. C.; BERGAMASCHI, D. P.; RICHTZENHAIN, L. J. ; NOGUEIRA, Y.; CAMARGO, L. M. A.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M. Evaluation of the performance of the modified direct agglutination test (MAT) for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 40, p.452-456, 2003.

FERREIRA, F.P.; MIURA, A. C.; MAREZE, M.; GARCIA, J. L.; FREIRE, R. L.; NAVARO, I. T. Frequency of anti-toxoplasma gondii antibodies in dog with clinical signs consistent with toxoplasmosis. *Rev. MEDICINA VETERINÁRIA* v.17, n.4, 2016.

GONÇALVES, D.D.; TELES, P.S.; REIS, C.R.; LOPES, F.M.R.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I.T.; ALVES, L.A.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C. Seroepidemiologia e variáveis ocupacionais e ambientais relacionadas à leptospirose, brucelose e toxoplasmose em trabalhadores de frigorífico do Estado do Paraná, Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.48, n.3, p.135-140, 2006.

LANGONI, H.; MODULO, J. R.; PEZERICO, S. B. Serological profile of anti-*Toxoplasma gondii* in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo State, Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.*, v.12, n.1, p.142-148, 2006.

LOPES, M. G.; MENDONÇA, I. L.; FORTES, K. P.; AMAKU, M.; PENA, H. F. J.; GENARI, S. M. Presence of antibodies against *Toxoplasma gondii*, *Neosporacanthium* and *Leishmania infantum* in dogs from Piauí. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 20, n. 2, p. 111-114, 2011.

MARQUES J.M; ISBRECHT F.B.; LUCAS T.M; GUERRA I.M.P.; DALMOLIN A; SILVA R.C. DA; LANGONI H; SILVA A.V. DA. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em animais de uma comunidade rural do Mato Grosso do Sul, Brasil Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 30, n. 4, p. 889-898, 2009.

ROMANELLI, P. R.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; MARANA, E. R.; OGAWA, L.; DE PAULA, V. S.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. *Research in Veterinary Science*, v. 82, n.2, p. 202–207, 2007.

SANT, P.D.; LEAL, A.; COELHO, C. D. Toxoplasmose em cães: uma breve revisão. *Rev. Coccidia*, v. 2(1), p. 2-39, 2014.

SHERDING, R.G. Toxoplasmose, Neosporose e Outras Infecções Protozoárias Multissistêmicas. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. (eds). *Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais*. São Paulo, Editora Roca, p.157- 162, 1998.

TENTER, AM.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M.; *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International journal for parasitology*. v.30, n. 12-13, p. 1217-1258, 2000.

ZHANG, S.; WEI, M. X.; WANG, L. Y.; DING, Z. Y.; XU, X. P. Comparison a modified agglutination test (MAT), IHAT and ELISA for detecting antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Acta Parasitologica Medica Entomologica Sinica*, China, v.8, n.4, p.199-203, 2001.

TAMANHO DE PRIMEIRA MATURAÇÃO E PERÍODO REPRODUTIVO DO PEIXE-REI *ATHERINELLA BRASILIENSIS* (QUOY & GALMARD, 1824) (ATHERINIFORMES, ATHERINOPSIDAE) CAPTURADOS NA PRAIA DE PONTA DE PEDRAS, LITORAL NORTE DO ESTADO DE PERNAMBUCO

Lucas Vinícius Santos Silva¹, Paulo Rogério de Souza Almeida¹, Isa Marielle Coutinho¹, Cecília Fernanda Farias Craveiro¹, Paulo Guilherme Vasconcelos de Oliveira¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE
contatolucassantoss@gmail.com

Resumo

O presente estudo teve como principal objetivo avaliar as características reprodutivas relacionadas ao tamanho de primeira maturação e ao período reprodutivo da *Atherinella brasiliensis*. As coletas ocorreram na praia de ponta de pedras no litoral norte de Pernambuco. Ao todo foram 132 espécimes, dos quais 117 (88,63%) foram fêmeas e 15 (11,36%) foram machos. As fêmeas tiveram uma predominância mensal em relação aos machos. A proporção sexual foi de 1 macho : 7,8 fêmeas. A relação entre o Índice Gonadossomático (IGS) e exemplares em maturação avançada mostrou que a *Atherinella brasiliensis* parece possuir atividade reprodutiva durante todo ano, com maior intensidade no mês de novembro para as fêmeas e no mês de abril para machos. O tamanho de primeira maturação sexual para as fêmeas foi de 7,05 cm. A maior parte da captura de *Atherinella brasiliensis* foi de indivíduos adultos. Apesar das fêmeas serem mais numerosas que os machos, a população mostrou-se em equilíbrio decorrente da efetiva atividade reprodutiva das fêmeas ao longo do ano.

Palavras chave: índice gonadossomático, zona de arrebentação, atividade reprodutiva.

1 Introdução

O peixe-rei *Atherinella brasiliensis* (QUOY & GAIMARD, 1825) é uma espécie bento-pelágica pertencente à família Atherinopsidae. Esta espécie é muito conhecida nas comunidades litorâneas da região Nordeste do Brasil, onde são capturadas pela pesca artesanal nas zonas costeiras e estuarinas, ambientes os quais são muito abundantes (ESSANHA et al. 2000; VENDEL et al., 2002). Apresentam ampla distribuição, sendo encontrada desde a Venezuela até o Rio grande do sul, com ocorrência em toda a costa brasileira (SERGIPENSIS & VIEIRA, 1999; FIGUEIREDO & MENEZES, 2003).

São animais de pequeno porte, possuem o corpo delgado e alongado, coloração branca prateada e são comumente encontrados em cardumes. Apresentam hábito alimentar oportunista e generalista, sendo considerados consumidores primários, devido a sua alimentação ser principalmente de zooplâncton, detritos de plantas e pequenos invertebrados bentônicos (CARVALHO, 1953; BEMVENUTI, 1990). Além disso, atua como um componente trófico importante na cadeia alimentar para animais de grande porte (BORDIGNON, 2006; VOOREN, 2004).

Diante da redução de estoques pesqueiros, causada principalmente, pela sobre-exploração dos recursos e pela deterioração de áreas essenciais para o desenvolvimento das espécies, torna-se necessário promover o aumento do conhecimento e domínio do ciclo reprodutivo das espécies (SILVA & SILVA, 1983). Os estudos sobre período reprodutivo apresentam grande importância biológica e estimativas precisas do tamanho de primeira maturação são necessárias para o manejo e conservação das espécies de peixes (HUNTER & MACEWICZ, 2003).

Tendo em vista a importância ecológica e da ausência de estudos referente aos aspectos reprodutivos do peixe-rei *Atherinella brasiliensis*, sobretudo na zona de arrebentação, o presente estudo tem como objetivo descrever o tamanho de primeira maturação e período reprodutivo do Peixe-rei *Atherinella brasiliensis*, capturados na zona de arrebentação da praia de ponta de Pedras do litoral norte do estado de Pernambuco.

2 Material e Métodos

Os exemplares de *Atherinella brasiliensis* foram capturados de agosto de 2013 a julho de 2014 na zona de arrebentação da praia de Ponta de Pedras, no litoral norte do estado de Pernambuco. Os arrastos foram realizados paralelos à costa, na direção da corrente, com uma profundidade até 1,5 metros, por 50 metros de praia. A rede de arrasto utilizada foi do tipo *picaré* com 20 metros de comprimento, 2 metros de altura e cinco milímetros entre nós. As amostras foram devidamente etiquetadas e conservadas em baixa temperatura, em aproximadamente -18°C, para posteriores análises.

As amostras foram fixadas em formaldeído a 10% por 24 horas e posteriormente conservadas em álcool etílico 70%. O comprimento total (CT) e o comprimento padrão (CP) foram medidos com paquímetro analógico e o peso total (P T) com balança de precisão (0,0001g). Os peixes foram dissecados, as gônadas foram removidas, pesadas e identificadas de acordo com sexo e desenvolvimento de estágio gonadal, conforme metodologia proposta por Vazzoler, (1996). As gônadas foram fixadas numa solução de formaldeído 10% durante 48 horas e colocadas novamente na solução fixadora. Após o processo de fixação as gônadas foram submetidas à desidratação e incluídas em parafina. Após a secagem, foi realizado o corte em micrótomo. Posteriormente, as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina, para a identificação dos estágios de maturação das gônadas utilizando a metodologia descrita por Behmer et al. (1976).

A relação comprimento-peso foi realizada para cada sexo (Mann-Whitney, $p < 0,05$) e estabelecido pela equação $PT = a \times CP^b$. A proporção sexual foi calculada de acordo com a fórmula M:F (número total de machos / número total de fêmeas) (VAZZOLER, 1996). A proporção sexual foi obtida através teste qui-quadrado (χ^2 ($p < 0,05$)) (SNEDECOR & COCHRAN, 1989). A determinação do tamanho de

primeira maturação da espécie foi realizada por distribuição da frequência relativa de fêmeas adultas em classes de comprimento padrão e comprimento total (MORENO et al., 2005). A classificação macroscópica e microscópica do desenvolvimento gonadal foi descrito e adaptado de acordo com Brown-Peterson et al. (2011) que adota cinco estágios de desenvolvimento para machos e fêmeas (imaturo, em desenvolvimento, desova possível, regressão e regeneração). O índice gonadosomático (IGS) foi calculado pela equação $IGS = \left(\frac{PG}{PT}\right) \times 100$, onde PG é o peso da gônada (WOOTON et al., 1978).

3 Resultados e Discussão

Foram capturados 132 espécimes, dos quais 117 (88,63%) foram fêmeas e 15 (11,36%) foram machos. O CP das fêmeas variou de 3,95 a 9,7 cm e dos machos de 5,5 a 8,3 cm. A maior frequência para ambos os sexos foi observada entre a classe de comprimento padrão 6,89 e 7,38 cm. As fêmeas tiveram uma predominância mensal em relação aos machos, com as maiores diferenças nos intervalos de 5,91 e 7,87 cm, indicando que as fêmeas atingem valores mais elevados de tamanhos corroborantes com Favaro et al. (2003, 2007), Freire et al. (2012) e Chagas & Costa-Junior (2013). Este mesmo intervalo apresentou também a maior frequência para ambos os sexos, diferentemente do estabelecido por Favaro et al. (2007) que descreveram que a maior predominância de machos ocorreu no intervalo de tamanho de 4,9 a 9,8 cm e fêmeas de 9,8 a 15,8 cm.

A proporção sexual foi de 1 macho : 7,8 fêmeas. As fêmeas foram significativamente mais frequentes em todos os meses ($\chi^2_{\text{calculado}} = 78,81 > \chi^2_{\text{tabelado}} = 19,68$), exceto para Junho ($\chi^2=0,33$), Julho ($\chi^2=0,3$), Agosto ($\chi^2=1$), Setembro ($\chi^2=2$) e Novembro ($\chi^2=3$). Não foram capturas amostras em Maio e Outubro. Não houve diferença significativa apenas na classe de comprimento de 5,42 a 5,91. Em todas as classes de comprimento as fêmeas foram mais abundantes e entre 3,95 a 5,42 e 8,36 a 9,7 nenhum macho foi capturado. A proporção sexual encontrada neste estudo foi de 1M: 7.8F, por outro lado, Favaro et al. (2007) obtiveram proporção de 1 M : 1.36 F mantidos em áreas de manguezais. Favaro et al. (2003) obtiveram em área de (1M: 1.07 F). As informações obtidas indicam que a predominância de fêmeas pode está associada a uma estratégia reprodutiva (FAVARO et al., 2003).

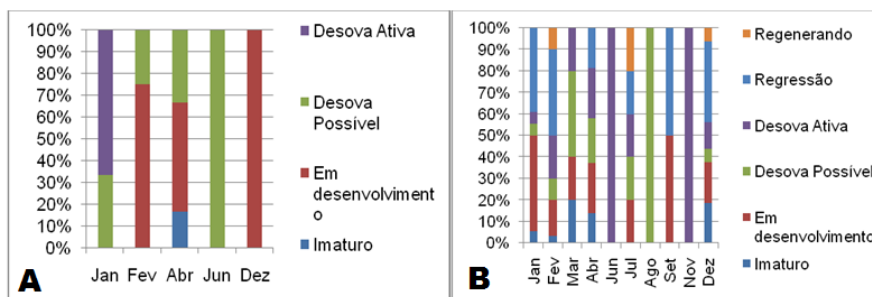


Figura 1: (A) Frequência relativa dos machos e (B) Frequência relativa das fêmeas de *Atherinella brasiliensis*.

O resultado da relação comprimento-peso foi $PT = 0,0116 \times CP^{3,01}$ ($r^2 = 0,93$) e $PT = 0,0128 \times CP^{2,96}$ ($r^2 = 0,97$) para fêmeas e machos respectivamente. Os machos têm mais incremento em comprimento do que em peso e as fêmeas mais em peso do que em comprimento, o que pode estar relacionado com o crescimento de tamanho das gônadas nas fêmeas na reprodução. De acordo com a análise histológica, dos 15 machos examinados, 1 encontrava-se imaturo, 7 encontravam-se em desenvolvimento, 5 encontravam-se em possível desova e 2 em desova ativa.

A relação comprimento-peso foi estimada para homens ($TL = 0,0128 SL^{2,96}$) e mulheres ($TL = 0,0116 SL^{3,01}$) separadamente porque ambos os sexos eram estatisticamente diferentes. A alometria encontrada para homens foi negativa ($b = 2,96$) e para mulheres positivas ($b = 3,01$). As diferenças entre a alometria dos sexos podem estar relacionadas com o desenvolvimento gonadal, principalmente o desenvolvimento gonadal feminino. Diferentemente do resultado encontrado neste estudo, Freire et al. (2012) encontraram uma alometria positiva para sexos agrupados de *Atherinella brasiliensis* na Bahia com $b = 3.11$ e no Rio Grande do norte com $b = 3.23$ e Macieira & Joyeux (2008) encontraram uma alometria negativa ($b = 2.91$) para o Espírito Santo.

A distribuição mensal da frequência dos estágios gonadais indica uma maior quantidade de machos imaturos em abril, no estágio 2 (em desenvolvimento) nos meses de fevereiro e abril, desova possível em abril e desova ativa em janeiro. Das 117 fêmeas examinadas, 11 encontravam-se imaturas, 27 encontravam-se em desenvolvimento, 15 encontravam-se em desova possível, 25 encontravam-se em desova possível, 35 em regressão e 4 em regeneração. Foi identificada uma maior frequência de fêmeas imaturas, em desenvolvimento, desova possível e desova ativa em abril. No estágio de regressão e regenerando foi obtido o maior percentual em fevereiro.

O peso das gônadas masculinas ficou entre 0,01 e 0,09g e o IGS mensal entre 0,19 e 1,22 com um pico em abril. Para fêmeas, o peso das gônadas foi de 0,01 a 0,71 e o IGS mensal de 0,2 a 11,4 com um pico em novembro, sugerindo que a desova ocorra entre setembro e novembro. Os resultados encontrados por Favaro et al. (2003, 2007) mostra que a *Atherinella brasiliensis* tem o período reprodutivo de junho a dezembro, que confirma os resultados encontrados por este estudo e, além disso, sugere que a desova esteja entre setembro e novembro. Favaro et al. (2007) encontraram um pico de reprodução em outubro e setembro o que também ocorreu neste estudo.

O tamanho em 50% de maturação (L_{50}) foi estimado apenas para as fêmeas, pois o número de machos não foi significativo estatisticamente. Foi obtido o L_{50} igual a 4,8 de comprimento padrão e 7,05 de comprimento total.

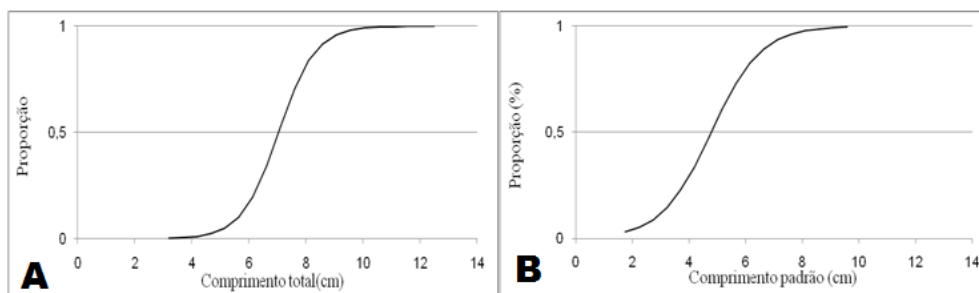


Figura 5: (A) Tamanho de primeira maturação (L_{50}) (CT) das fêmeas (n= 117) ; (B) Tamanho de primeira maturação (L_{50}) (CP) das fêmeas (n= 117) .

Os resultados indicam uma predominância de adultos na amostra da população. Neste estudo foram encontradas fêmeas reprodutoras entre 6,7 e 12,1 cm com primeiro tamanho de maturação estimado de 7,05 cm. Bervian & Fontoura (2006) estudando biologia reprodutiva de *Atherinella brasiliensis* no estuário de Tamandaí, observaram fêmeas reprodutoras de na classe de tamanho entre 7,4 a 14,4 cm de TL e máximas comprimento total de 16 cm.

De modo geral a maior parte da captura de *Atherinella brasiliensis* foi de indivíduos adultos. Apesar das fêmeas serem mais numerosas que o os machos, a população mostrou-se em equilíbrio. A variação da média mensal do IGS e a distribuição de frequência mensal dos estágios sexuais para fêmeas sugerem que a reprodução pode ocorrer ao longo de todo ano, havendo um período de maior atividade reprodutiva em novembro.

4 Referências

- BEHMER, Oswaldo A.; TOLOSA, Erasmo M.C.; FREITAS NETO, Antonio G. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: EDART, 1976.
- BEMVENUTI M.A. Hábitos alimentares de peixes-rei (Atherinidae) na região estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. *Revista Atlântica*, n. 12, p. 79 – 102. 1990.
- BERVIAN G.; FONTOURA N. F. Growth of the silverside *Atherinella brasiliensis* in Tamandaí Estuary, Southern Brazil (Actinopterygii, Atherinopsidae). *Neotropical Ichthyology*, n.5, p. 485 – 490. 2007.
- BORDIGNON, M. O. Diet of the fishing bat *Noctilio leporinus* (Linnaeus) (Mammalia, Chiroptera) in a mangrove area of southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.23, n. 1, p. 256-260. 2006.
- BROWN-PETERSON, N., WYANSKI, D.M., SABORIDO-REY, F., MACEWICZ, B.J. and LOWERRE-BARBIERI, S.K. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries*, v. 3, n. 1, p. 52-70. 2011.
- CARVALHO J. P. Alimentação de *Xenomelaniris brasiliensis* (Quoy & Gaimard) (Pisces – Muglioidei – Atherinidae). *Boletim do Instituto Oceanográfico*, n. 4, p. 127 – 144. 1953.
- CHAVES, P.T.; VENDEL, A. L. Análise comparativa da alimentação de peixes (Teleostei) entre ambientes de marisma e de manguezal num estuário do sul do Brasil (Baía de Guaratuba, Paraná). *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 25, n. 1, p. 1-15. 2008.

CONTENTE, R. F.; STEFANONI, M. F.; SPACH, H. L. Fish assemblage structure in the estuary of the Atlantic Forest biodiversity hotspot (southern Brazil). *Ichthyological Research*, v. 50, n. 4, p. 58-38. 2011.

CONTENTE, R. F.; STEFANONI, M. F.; SPACH, H. L. Size-related changes in diet of the sliper sole *Trinectes paulistanus* (Actinopterygii, Achiridae) juveniles in a subtropical Brazilian estuary. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, n. 4, p. 63-69. 2008.

FÁVARO L. F.; OLIVEIRA E. C.; VERANI N. F. Estrutura da população e aspectos reprodutivos do peixe-rei *Atherinella brasiliensis* em áreas rasa do complexo estuarino de Paranaguá, Paraná, Brasil. *Resvista Brasileira de Zoologia*, n. 24, p.1150 – 1156. 2007.

FAVARO, L. F., LOPES, S. DE C. G. & SPACH, H. L. Reprodução do peixe-rei, *Atherinella brasiliensis* (Quoy & Gaimard y & Gaimard) (Atheriniformes, Atherinidae) Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 20, n.3, p. 501–506. 2003.

HUNTER, J. R., and B. J. MACEWICZ. Improving the accuracy and precision of reproductive information used in fisheries. *Fisken og havet*, n. 12, p. 57–68. 2003.

MENEZES, Naércio A. ; BUCKUP, Paulo A.; FIGUEIREDO, José L. ; MOURA, Rodrigo L. *Catálogo de peixes marinhos e de água doce do Brasil*. São Paulo: Museu de Zoologia USP, 2003.

MORENO, T.; CASTRO, J.J.; SOCORRO, J. Reproductive biology of the sand smelt *Atherina presbyter* Cuvier, 1829 (Pisces:Atherinidae) in the central-east Atlantic. *Fisheries Research*, v. 72, p. 121–131. 2005.

PESSANHA, A. L. M.; ARAÚJO, F. G.; AZEVEDO, M. C. C.; GOMES, I. D. Variações temporais e espaciais na composição e estrutura da comunidade de peixes jovens da baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 17, n. 1, p.251-261. 2000.

SERGIPENSIS S.; VIEIRA A. C. Aspectos sazonais de ocorrência e tamanho de *Xenomelaniris brasiliensis* (Teleostei, Atherinidae) na laguna de Piratininga, Niterói, RJ. *Oecologia Brasiliensis*, n. 2, p. 291 – 304.1999.

SNEDECOR, George. W. ; COCHRAN, William. G. *Statistical Methods*. 8. ed., Iowa State: University Press, 1989.

VAZZOLER, Anna Emília A. M. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá, PR: Eduem, 1996.

VENDEL, A. L.; CHAVES, P. T. Use of estuarine environment (Barra do Saí lagoon, Brazil) as nursery by fish. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 23, n. 4, p. 1117-1122. 2006.

WOOTTON, R. J.; EVANS, G. W.; MILLS, L. A. Annual cycle in female three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.) from an upland and lowland population. *Journal of Fish Biology*, v. 12, p. 331 – 343. 1978.

UTILIZAÇÃO DA GONADOTROFINA CORIÔNICA EQUINA NA REPRODUÇÃO DE VACAS E ÉGUAS

Luiza Borba de Almeida Madruga, Caroline da Silva Leite, Isabela Gilena Lins dos Santos, Marcelo Weinstein Teixeira
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
luizaalmeida95@hotmail.com

Resumo

A gonadotrofina coriônica equina é um hormônio glicoproteico produzido quando há a formação dos cálices endometriais de éguas gestantes. Em éguas, este hormônio estimula a formação de corpos lúteos acessórios que irão manter os níveis adequados de progesterona enquanto não ocorre a sua produção através da placenta. Quando aplicada em espécies domésticas a eCG tem papel similar ao do FSH e LH, tendo resultados na estimulação da puberdade, reversão de anestro, superovulação e melhoria da fertilidade, uma vez que a eCG aumenta a atividade das células luteínicas fazendo com que haja uma maior síntese de progesterona. Em equinos, a eCG causa luteinização e ovulação dos folículos durante a gestação, resultando em uma maior produção de progesterona. Em bovinos, esse hormônio tem papel importante na sincronização do crescimento folicular, superovulação e transferência de embriões em tempo fixo.

Palavras chave: gonadotrofina corionica equina, corpo lúteo acessório, progesterona

1 Introdução

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é um hormônio glicoproteico produzido nas éguas. A eCG é produzida durante a gestação quando há a formação dos cálices endometriais, ou seja, logo após a ocorrência da migração de células trofoblásticas do embrião para o endométrio do corno uterino gestante (WOODING et al., 2001).

Assim sendo, a eCG, quando aplicada nas espécies domésticas, tem papel similar ao do hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), sendo responsáveis pela foliculogênese e ovulação, respectivamente. Portanto, a eCG é a única gonadotrofina que se liga aos receptores de LH e de FSH (ROSSA, 2009). Assim, ao se ligar nos receptores de FSH e LH no folículo tem a possibilidade de promover o crescimento, maturação do folículo e ovulação (Stewart e Allen, 1981; Baruselliet al., 2008).

Diante disso, o estudo da Gonadotrofina Coriônica Equina torna-se importante para conhecimento de técnicas utilizadas na melhoria da reprodução de equinos e bovinos, possibilitando um maior sucesso nos resultados da prenhez, sendo citar as formas de utilização da eCG o objetivo desta revisão.

2 Revisão de literatura

2.1 A gonadotrofina coriônica equina

Nos equinos, a gonadotrofina coriônica estimula a formação de corpos lúteos acessórios, os quais mantêm o nível de progesterona adequado enquanto não há a sua produção através da placenta, realizando, assim, a manutenção da prenhez. De acordo com Niswender et al (2000) e Thibault e Levasseur (2001) após 150-160 dias de gestação é que a placenta assume a função de produção integral da progesterona.

O início da produção de eCG nos equinos se dá a partir do 35° ao 40° dia de gestação com o aparecimento dos cálices endometriais (ALLEN et al., 2002b). Sendo assim, no início da gestação, é possível observar eCG no soro materno. Vale ressaltar que segundo Allen (1969) e Murphy e Martinuk (1991) as concentrações séricas máximas da eCG é obtida em torno de 60 dias de gestação.

Segundo Murphy (2012), a eCG tem como característica um tempo de ação longa, sendo sua meia-vida em equinos de aproximadamente 6 dias (DRION et al., 2001) e, quando aplicada em bovinos, sua meia-vida é de cerca de 45.6 horas (SCHAMS et al., 1978).

O tempo de meia vida implica em uma segurança extra para a gestação, uma vez que após o desaparecimento dos cálices endometriais ainda há a presença da eCG na circulação enquanto a placenta está assumindo a sua função de produção da progesterona para manutenção da gestação.

A aplicação da gonadotrofina coriônica equina resulta no surgimento de folículos médios e grandes e, portanto, haverá uma manifestação estral mais precoce (ALI, 2007). Além disso, a eCG afeta o folículo e aumenta o diâmetro do corpo lúteo, aumento as concentrações plasmáticas de progesterona e a atividade das mitocôndrias nas células luteínicas (RIGIOLIO et al., 2013).

2.2 A utilização da eCG nas vacas e nas éguas

Nas éguas, a eCG tem como papel principal a indução da formação de corpos lúteos acessórios, de forma que aumente a produção de progesterona e realizando a manutenção inicial da gestação. Porém, a aplicabilidade da eCG em outras espécies domésticas mostrou que esse hormônio pode ser utilizado para indução de puberdade, reversão de anestro, superovulação e, mais recentemente, melhoria da fertilidade (MURPHY, 2012).

Assim, o uso da gonadotrofina coriônica equina tem apresentado efeito positivo em rebanhos que apresentam períodos de anestro, e em animais que estão no período pós-parto, sendo este inferior a dois meses, e em animais com condição corporal comprometida e em animais que estão no final do tratamento de sincronização da ovulação onde os mesmos apresentam comprometimento no crescimento do folículo dominante devido a altos níveis de progesterona (Marques et al., 2005; Baruselli et al., 2008).

Em bovinos de corte, o anestro pós-parto está altamente associado a amamentação e às condições nutricionais (Montiel e Ahuja, 2005), sendo a baixa concentração plasmática de progesterona e baixa condição corporal uma das possíveis causas para uma taxa reduzida da prenhez em bovinos, podendo ser revertida a partir da aplicação da eCG.

Estudos realizados com base em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), utilizados em diversas raças de bovinos, demonstraram que a utilização da eCG em vacas de corte em anestro (geralmente pós parto) e de baixo escore corporal aumenta a taxa de ovulação, uma vez que há mais estimulação para o aumento da concentração de progesterona no plasma, resultando em melhores índices de fertilidade (BARUSELI et al., 2004; BRYAN et al., 2008; DORNELES TORTORELLA et al., 2013).

De acordo com Souza et al. (2009) em seu trabalho com vacas leiteiras, foi demonstrado que com a utilização da eCG nesses animais houve aumento da proporção, tamanho e/ou função das células luteínicas do corpo lúteo, sendo estas responsáveis por 80% da produção de P4 (progesterona), aumentando, assim, a sua produção. Por isso, o uso da eCG vem tendo fundamental importância e utilização no aumento da concentração plasmática de P4 em ciclos estrais subsequentes (Baruselli et al., 2000).

A partir disso, sabe-se que a eCG é bastante utilizada na indução de superovulação ou para melhorar a qualidade do folículo dominante em ruminantes, porém, segundo (GINTHER, 1992) a primeira função não se aplica para equinos, pois é provável que haja uma limitada ligação deste hormônio com os receptores de FSH do folículo de éguas não gestantes (McCUE, 1996).

Além disso, segundo Baruselli et al. (2008), “trabalhos recentes apontam a possibilidade do emprego da eCG para superovulação tanto em *Bos indicus* como em *Bos taurus*, com o objetivo de facilitar o manejo (dose única), sem comprometer a produção de embriões”.

2.3 Conclusão

A eCG é um hormônio fundamental no desenvolvimento embrionário por ser responsável pela produção inicial da progesterona. Portanto, o seu estudo pode ser fundamental para o conhecimento de técnicas utilizadas para reprodução em vacas e éguas, tendo-se, assim, o potencial para melhorar os índices de prenhez, barateando os possíveis custos, como por exemplo, em programas de transferência de embrião.

2.4 Agradecimentos e apoios

Agradeço a UFRPE pela oportunidade de crescimento contínuo.

2.5 Referências

ALI, A. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. **Small Rumin. Res.**, v. 72, p. 33-37, 2007.

ALLEN, W. R.; WILSHER, S.; STEWART, F.; OUSEY, J.; FOWDEN, A. The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. **Journal of endocrinology**, v. 172, n. 2, p. 237-246, 2002.

MURPHY, D. B.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 1, p. 27-44, 1991.

BARUSELLI, P.S, JACOMINI, J.O, SALES, J.N.S, CREPALDI, G.A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, 3, 2008, Londrina, PR. Anais... Londrina: SIRAA, 2008. p.146-167.

BARUSELLI, P.S, MARQUES, M.O, MADUREIRA, E.H, COSTA NETO, W.P, GRANDINETTI, R. R, BÓ, G.A. Ovarian superovulation in embryo recipients to improve the number of corpus luteum, progesterone concentration and pregnancy rates. **ActaSci Vet**, v.28, p.218, 2000. Resumo.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BO, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 82, n. 83, p. 479–486, 2004.

BARUSELLI, P.S, REIS, E.L, CARVALHO, N.A.T, CARVALHO, J.B.P. **eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (Bos indicus) heifers treated with progesterone releasing device**. In: International Congress on Animal Reproduction, 15, 2004, Porto Seguro, BA, Brazil. Abstracts... Porto Seguro, BA: ICAR, 2004b. v.1, p.17. Resumo.

DORNELES TORTORELLA, R.; FERREIRA, R.; TONELLOTTI DOS SANTOS, J.; SILVEIRA DE ANDRADE NETO, O.; BARRETA, M. H.; OLIVEIRA, J. F.; & PEREIRA NEVES, J. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrus beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 79, n. 8, p. 1204–1209, 2013.

GINTHER, O. J. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. 2ª Ed. **EquiServices**: Madison, Wisconsin, p. 642, 1992

MARQUES, M.O, REIS, E.L, CAMPOS FILHO, E.P, BARUSELLI, P.S. **Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós-parto**. In: Simpósio Internacional de Reproducción Animal, 5, 2003, Córdoba, Argentina. Anais... Córdoba: SIRA, 2003. p.392. Resumo.

MONTIEL, F., AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. **Anim Reprod Sci**, v.85, p.1-26, 2005. MCCUE, P. M. Superovulation. *Vet. Clin. North Amer. Equine Practice*. v. 12, n. 1, p.1-11, 1996.

MURPHY, D. B. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. **Anim. Reprod.**, v. 9, p. 223-230, 2012.

NISWENDER, G. O.; JUEGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; MCINTUSH, E. W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiol. Rev.**, v. 80, p. 1-29, 2000.

RIGOGLIO, N. N.; FÁTIMA, L. A.; HANASSAKA, J. Y.; PINTO, G. L.; MACHADO, A. S. D.; GIMENES, L. U. et al. Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. **Theriogenology**, v. 79, p. 673–679, 2013.

ROSSA, L. A. F. **Purificação da gonadotrofina coriônica equina, do plasma sanguíneo de éguas prenhes, por cromatografia de afinidade.** 2009. 78f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SCHAMS, S.; MENZER, C. H.; SCHALLENBERGER, E.; HOFFMAN, B.; HAHN, R. **Some studies on pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and on endocrine responses after application for superovulation in cattle,** In: Control of Reproduction the Cow. Commission of the European Communities, Luxembourg, p. 25-80, 1978.

SOUZA, A.H, VIECHHNIESKI, S., LIMA, F.A, SILVA, F.F, ARAÚJO, R., BÓ, G.A, WILTBANK, M.C, BARUSELLI, P.S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, p.10-21, 2009.

STEWART, F., ALLEN, W.R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionicgonadotrophins. **J ReprodFertil**, v.62, p.527-36, 1981.

WOODING, F. B. P.; MORGAN, G.; FOWDEN, A. L.; ALEEN, W. R. A structural and immunological study of chorionic gonadotrophin production by equine trophoblast girdle and cup cells. **Placenta**, v. 22, p. 749-767, 2001.

THIBAULT, C.; LEVASSEUR, M. C. **La reproduction chez les mammifèreset l'homme. In: Du corps jaunecyclique au corps jaunegestatif.** Paris: INRA Editions, 2001. p. 479-504.

OTIMIZAÇÃO DO PROTOCOLO PCR-RFLP PARA DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO TAQ1 NO GENE DRD2

**Fernanda, G.S. Guedes¹, Erinaldo Ubirajara Damasceno dos Santos²,
Tiago Furtado Sampaio³, Yasmin Lopes de Moraes¹, Paulo Roberto
Eleutério de Souza^{1,2,3}**

¹ Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

² Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada-UPE.

³ Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde-UFPE.
gabrielaguedes13@gmail.com

Resumo

O receptor dopaminérgico (DRD2) é um dos mais importantes alvos de drogas agonistas dopaminérgicas, e é responsável por mediar funções fisiológicas do neurotransmissor dopamina, deficiente na doença de Parkinson (DP). O polimorfismo *Taq1A*, no gene *DRD2*, foi associado risco aumentado para desenvolver efeitos motores na DP. O objetivo deste estudo foi otimizar o protocolo para detecção deste polimorfismo, baseado na técnica da PCR-RFLP. Foram utilizados DNA, a partir de sangue total periférico, de indivíduos com a DP provenientes do ambulatório Pró-Parkinson do Hospital das Clínicas de Pernambuco. Primers específicos para mutação foram desenhados, e ajustes na reação da PCR foram realizados para padronização da técnica. Os resultados mostraram ser eficientes e reprodutivos na detecção deste polimorfismo, sendo possível identificar e reproduzir genótipos em 100 indivíduos com a DP. Estes dados torna possível estabelecer uma possível correlação dosagem - genótipo- resposta medicamentosa na terapia da DP.

Palavras chave: farmacogenética, receptor dopaminérgico, polimorfismo, doença de Parkinson, padronização da PCR

1 Introdução

A Doença de Parkinson (DP) descoberta por James Parkinson, em 1817 (De Lau & Breteler, 2006) é a segunda doença neurológica mais comum no mundo, ficando atrás apenas da doença de Alzheimer, acometendo principalmente pessoas com idade superior a 65 anos de idade (Alves *et al.*, 2008). Em 2006, cerca de 3% da população acima de 60 anos de idade foram notificadas com a DP (Alves *et al.*, 2008; Barbosa *et al.*, 2006). A doença é caracterizada pela perda significativa de neurônios dopaminérgicos que leva a alterações no movimento como: rigidez e bradicinesia (Greenamyre, 2001; Rieck, *et al.*, 2012). O prognóstico clínico na DP encontra-se bastante variável. A velocidade de progressão da doença e as manifestações clínicas são diferentes entre os pacientes (Macleod *et al.*, 2014). Desde o primeiro estudo sobre a DP,

em 1967, Hoehn e colaboradores já haviam notado uma grande variedade entre os indivíduos portadores da DP. Os critérios de diagnósticos e de inclusão e os desenhos de estudos chegam há explicar um pouco sobre essa variabilidade. Nas últimas décadas o estudo genético na DP vem se intensificando, mostrando-se heterogêneo.

Dentre os genes que estão envolvidos na progressão dessa doença se destacam o receptor de dopamina D2, responsável por mediar funções fisiológicas do neurotransmissor catecolaminérgico de dopamina, que vão desde movimentos voluntários, recompensa a regulação hormonal e hipertensão (Paus *et al.*, 2008). O gene do receptor dopaminérgico D2 (DRD2) encontra-se localizado no cromossomo 11q22-q23 (Jenner, 1995; Plante, 1995) e codifica duas isoformas que possuem funções distintas, D2L (longa), que se encontra preferencialmente na membrana pós-sináptica, e D2S (curta) que atua como auto receptor e se encontra na membrana pré-sináptica (Usiello *et al.*, 2000). Porém, ambas as isoformas apresentam a capacidade de regular a liberação da dopamina. Wang e colaboradores (2001) relataram que o gene DRD2 é responsável pelo controle do padrão de movimento e nível geral de atividade locomotora em animais, e Thompson e colaboradores (1997) já havia mostrado que o uso de drogas antagonistas do receptor D2 poderiam prejudicar a capacidade locomotora de pacientes com a DP.

O gene DRD2 pode apresentar vários polimorfismos, dentre eles, o polimorfismo de uma única base (SNP), conhecido como Taq1 (rs1800497) que promove uma mutação de C para T. Segundo Grandy *et al.* (1989) o polimorfismo Taq1 cria dois alelos: A1 (variante) e A2 (selvagem). O alelo A1 é encontrado em uma pequena parte da população, sendo associado com uma redução significativa (30%) no número de sítios de ligação do DRD2 no núcleo caudal dos pacientes comparado ao alelo A2 (Noble *et al.*, 1991). Além disso, foi mostrado que o alelo A1 se encontra em desequilíbrio com outros polimorfismos no gene *DRD2* (Ritchie *et al.*, 2003). O presente estudo teve por objetivo padronizar a técnica da PCR convencional para identificação do polimorfismo Taq1 do gene *DDR2* em pacientes com DP, atendidos no ambulatório Pró-Parkinson do Hospital das Clínicas de Pernambuco, para posterior relação um prognóstico clínico da atividade da doença ou com a terapia utilizada neste grupo de pacientes.

2 Material e Métodos

2.1- Local de realização do Trabalho

O estudo foi realizado no serviço PRÓ-PARKINSON, ambulatório de Neurologia do HC/UFPE e no laboratório de Genética, bioquímica e sequenciamento de DNA prof Tânia Falcão (GENOMA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

2.2 - Amostras

Foram coletados 3mL de sangue periférico em tubo de ensaio contendo EDTA de cada paciente para posterior extração do material genético dos pacientes. As amostras biológicas coletadas foram encaminhadas para análise molecular no Laboratório de Genética Bioquímica e Sequenciamento de DNA Profa. Tânia Falcão (GENOMA) da UFRPE.

2.3 - Extração de DNA

A extração procedeu-se a partir de 300µl de sangue total periférico contendo EDTA utilizando-se o Wizard® Genomic DNA Purification kit (Promega) de acordo com as instruções do fabricante. Após a extração as amostras serão tratadas com RNase e posteriormente mantidas a uma temperatura de -20°C.

2.4 - Quantificação do DNA

Para quantificação das amostras foi utilizado o equipamento nanodrop. E posteriormente foi utilizado aproximadamente 100 ng de amostra nas reações de PCR.

2.5 - Escolha dos *primers* específicos para o gene DRD2.

Para seleção dos primers foram realizadas buscas no site ncbi.nlm.nih.gov de artigos científicos para identificação do polimorfismo Taq1 no gene DRD2, utilizando a metodologia da PCR convencional. Foram utilizados os descritores TAq1 polymorphism, DRD2 e PCR. Foi escolhido a variante Taq1A (rs1800497) que foi identificada através do método da PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism). Em seguida foi realizado um alinhamento das sequências utilizando-se do programa BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome). Foi escolhida a sequência de humanos com 100% de homologia ao primer usado. A opção de sequência no modo FASTA foi usada para determinação do tamanho da sequência a ser amplificada.

2.6 Amplificação do gene DRD2

A reação de amplificação consistiu de 1X Master mix 10X (Promega); 0,3 µL de cada primer (10 pmol/ µL); 2µL de DNA e água q.s.p para 10 µL. As condições térmicas foram as seguintes: 40 ciclos de 94°C por 2 min; 94°C por 30 s; 52°C por 30 s; e 72°C por 30 s; e uma extensão final: 72°C por 3 minutos. Após a reação de amplificação, o produto da amplificação foi separado eletroforéticamente, em um gel de agarose a 2%, a 70V durante 40 min.

2.7 Digestão do polimorfismo Taq1 do gene DRD2.

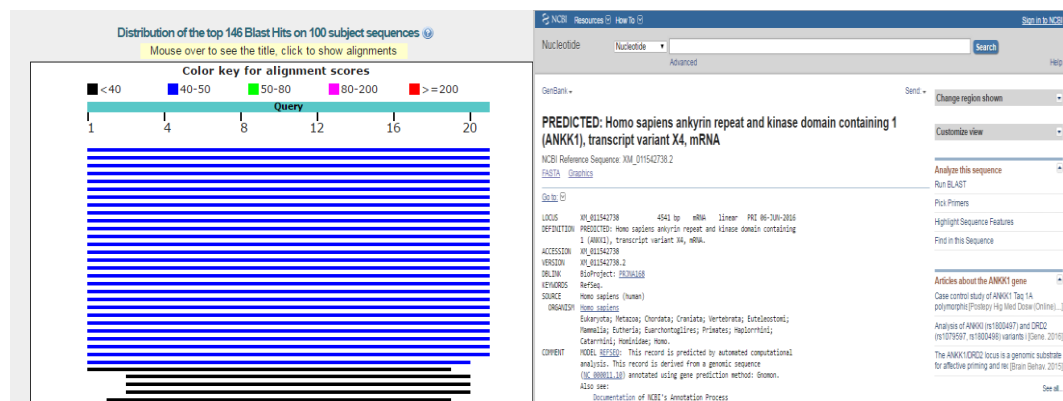
A reação de digestão foi composta por: 5 µL do amplicon, 1 µL de Tampão da enzima Taq1 5x, 0,1 µL de enzima Taq 1 e 0,1 µL de BSA. O produto da digestão foi separado em um gel de agarose a 3% e visualizado pela luz UV. A digestão gerou bandas de 231pb, representando o alelo A1, e bandas de 125 e 106pb, representando o alelo A2 (figura 2), conforme descrito em alinhamento acima descrito.

3 Resultados e Discussão

Na figura 1 é mostrado o alinhamento dos primers mostrando a região a ser amplificada do gene DRD2 de 231 pares de bases. A amplificação do gene DRD2 contendo de 231 pares de base é mostrado na figura 2. A genotipagem referente ao polimorfismo Taq1 do gene *DRD2* é mostrada na figura 3. Nesta figura são mostradas 04 amostras com genótipo como A1/A1; 08 com genótipo A1/A2; e 06 com genótipo A2/A2. O percentual do polimorfismo Taq1 do gene DRD2 em indivíduos com Doença de Parkinson foi o seguinte: 07 % apresentaram o genótipo A1/A1, 38% A1/A2 e 55% A2/A2. Estes resultados estão de acordo com resultados prévios que mostram o genótipo selvagem A2/A2 como o genótipo mais frequente (Kyiohara *et al.* 2011;

Ritchie and Noble, 2003). Esta genotipagem irá contribuir para o conhecimento da variação na resposta terapêutica em pacientes tratados com levodopa, possibilitando desta forma, avaliar o possível envolvimento da resposta farmacológica associada com o perfil genético dos pacientes. Sendo assim, é possível contribuir para melhorar na qualidade de vida de pacientes portadores desta doença.

FIGURAS



ACCTTCCTGAGTGTCAACCTCCTAGAACATCACGCAATGTCCACGCCCGCAACAAGGTGGGCTGGACACCC
GCCCACCTGGCCGCCCTCAAGGGCAACACAGCCATCCTCAAAGTGCTGGTCGAGGCAGGCAGGCCAGCTGGACGT
CCAGGATGGAGTGAGCTGCACACCCCTGCAACTGGCCCTCCGAGCCGAAAGCAGGGCATCATGTCCTCTCTAGA
GGGCAAG

Figura 1. Resultado do alinhamento blast do gene DRD2. Em baixo, foi destacado o fragmento resultante da sequência FASTA contendo 231 pares de bases. Em amarelo são destacadas as sequências dos primers selecionados.

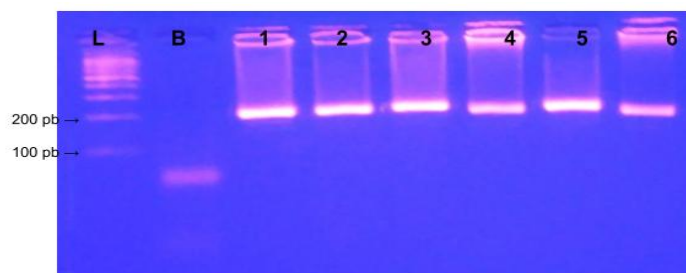


Figura 2: Amplificação do gene DRD2 em gel de Agarose 3% constando a amplificação. L: Ladder; B: Branco; 1-6: Produto de amplificação do gene DRD2 dos pacientes com a doença de Parkinson.

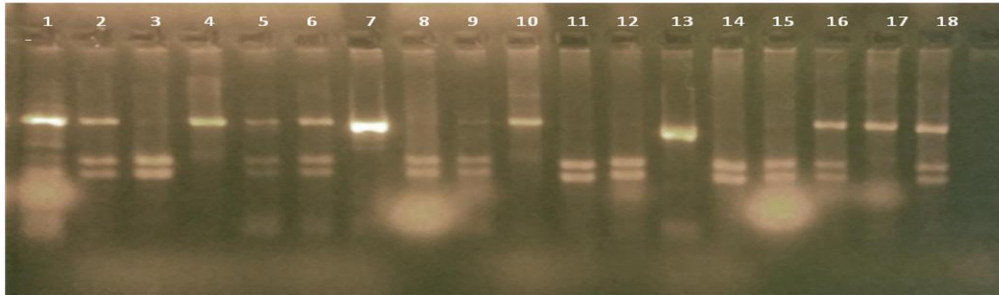


Figura 3. Genotipagem de 18 Pacientes com a Doença de Parkinson em gel de agarose a 3%. Amostras 4,10,13 e 17: Genótipo A1/A1; Amostras 1, 2, 5, 6,9, 16, 17 e 18: Genótipo A1/A2; e as amostras 3,8,11, 12, 14 e 15: Genótipo A2/A2.

Agradecimentos e apoios

A universidade Federal Rural de Pernambuco, a FACEPE, aos pacientes do Programa Pró-Parkinson.

Referências

- ALVES G, FORSAA EB, PEDERSEN KF, DREETZ GJERSTAD M, LARSEN JP. **Epidemiology of Parkinson's disease.** (2008). *J. Neurol.* 255(5): S18-32.
- BARBOSA MT, CARAMELLI P, MAIA DP, CUNNINGHAM MC, GUERRA HL, LIMA-COSTA MF, CARDOSO F. **Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: a community-based survey in Brazil** (2006). *Movement disorders: official journal of the movement disorder society.* 21(6): 800-808
- DE LAU LM, BRETELER MM. **Epidemiology of Parkinson's disease.** (2006). *Lancet Neurol.* 5:525-35.2
- GREENAMYRE JT. **Glutamatergic influences on the basal ganglia.** (2001). *Clin. Neuropharmacol.* 24: 65-70.
- HOEHN MM AND YAHR M. **Parkinsonism: onset, progression and mortality.** (1967). *Neurology.* 17(5): 427-42.
- JENNER PŽ. **The rationale for the use of dopamine agonists in Parkinson's disease.** (1995). *Neurology* 45 (suppl 3):6-12.
- KIYOHARA C, MIYAKE Y, KOYANAGI M, FUJIMOTO T, SHIRASAWA S, TANAKA K, FUKUSHIMA W, SASAKI S, TSUBOI Y, YAMADA T, OEDA T, SHIMADA H, KAWAMURA N, SAKAE N, FUKUYAMA H, HIROTA Y, NAGAI M; FUKUOKA KINKI PARKINSON'S DISEASE STUDY GROUP. **Genetic polymorphisms involved in dopaminergic neurotransmission and risk for Parkinson's disease in a Japanese population.** (2011). *BMC Neurol.* Jul 25;11:89. doi: 10.1186/1471-2377-11-89.
- MACLEOD AD, TAYLOR KS, COUNSELL CE. **Mortality in parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis.** (2014). *Mov Disord.* 29 (13):1615-22.
- NOBLE EP, BLUM K, RITCHIE T, *et al.* **Allelic association of the D2 dopamine**

receptor gene with receptor-binding characteristics in alcoholism (1991). *Arch Gen Psychiatry*. 48: 648–654

PAUS S, GRÜNEWALD A, KLEIN C *et al.* **The DRD2 TaqIA polymorphism and demand of dopaminergic medication in Parkinson's disease.** (2008). *Mov. Disord.* 23(4): 599–602.

PLANTE-BORDENEUVE V, TAUSSIG D, THOMAS F, SAID G, WOOD NW, MARSDEN CD, HARDING AE Ž. **Evaluation of four candidate genes encoding proteins of the dopamine pathway in familial and sporadic Parkinson's disease.** (1995). *Neurology*. 48:1589-1593

RITCHIE T AND NOBLE EP. **Association of seven polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene with brain receptor-binding characteristics.** (2003). *Neurochem Res*. 28(1):73-82.

RIECK M, ALTMANN V., FRANCISCONI CLM, FAGUNDES, PTB, MONTE TL, CALLEGARI-JACQUES SM, RIEDER CRM, HUTZ MH. **DRD2 halotype is associated with dyskinesia induced by levodopa therapy in Parkinson's disease patients.** (2012). *Future medicine* 13(15), 1701–1710

THOMPSON J, THOMAS N, SINGLETON A, PIGGOTT M, LLOYD S, PERRY EK, MORRIS CM, PERRY RH, FERRIER IN, COURT JA **D2 dopamine receptor gene (DRD2) Taq1 A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele.** (1997) *Pharmacogenetics* 7:479–484.

USIELO A, BAIK JH, ROUGE-PONT F, PICETTI R, DERICH A, LEMEURE M, PIAZZA PV, BORRELLI E **Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors.** (2000). *Nature* 408 (6809): 199-203

WANG J, LIU ZL, CHEN B. **Association study of dopamine D2 D3receptor gene polymorphisms with motor fluctuations in PD.** (2001) *Neurology*.;56:1757–9

ANÁLISE QUANTITATIVA DE CÉLULAS DE PURKINJE DE RATAS PRENHES EXPOSTAS A DOSAGENS SUBLETAIS DO HERBICIDA GLIFOSATO (ROUNDUP®) E TRATADAS COM MELATONINA

Cristina R. S. Barbosa¹, José W. M. Viana¹, Joaquim Evêncio Neto², Lécio L. Almeida³

1. Estudantes de IC da Universidade Regional do Cariri -URCA
2. Pesquisador do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal daUFRPE
3. Pesquisador do Departamento de Ciências Biológicas da
URCA E-mail:Cristinase75@gmail.com

Resumo:

A melatonina é o principal hormônio produzido pelas células da glândula pineal. Está associada às funções de ritmo circadiano e à regulação fisiológica do organismo. Devido seu efeito antioxidante, sua forma exógena vem sendo utilizada no tratamento de intoxicações por herbicidas. Assim, objetivou-se avaliar o efeito neuroprotetor da melatonina sobre o cerebelo de ratas prenhas expostas ao herbicida Glifosato-Roundup®. Foram utilizadas 15 ratas prenhas divididas em três grupos ($n = 5$ cada) um controle; o G2 exposto ao herbicida e o G3 tratado com melatonina. A exposição ao herbicida e tratamento com melatonina ocorreu do 8º até 14º dia de prenhez. Logo após, as ratas foram anestesiadas, eutanaziadas e o encéfalo coletado e submetido ao processamento histológico. Os resultados revelaram que houve redução no número de células de Purkinje do grupo exposto ao herbicida Glifosato-Roundup®, porém no grupo tratado com melatonina observamos atividade neuroprotetora.

Palavras chave: Melatonina, córtex cerebelar, herbicida.

1 Introdução

O cerebelo é um órgão derivado do mesencéfalo que fica situado dorsalmente ao bulbo e à ponte repousando sobre a fossa cerebelar do osso occipital. Além disso, desempenha funções locomotoras, bem como funções cognitivas. Encontra-se

constituído por um neocórtex cerebelar que está dividido em três camadas: Camada molecular, camada de células de Purkinje e camada granular (CROSSMAN,1997). As células de Purkinje são responsáveis em captar todas as informações referentes ao processo de comunicação cerebelar, podendo apresentar alterações degenerativas ao longo do processo de envelhecimento (APFEL MIR et al., 2002), ocasionando o desenvolvimento de doenças cerebelares. Devido à expansão agropecuária e as pressões impostas pela indústria tornaram-se comum o uso de herbicidas nas lavouras agrícolas. O Glifosato- Roundup[®] está entre os organofosforados mais utilizados por agricultores, estudos mostram que a exposição indevida a esse agente pode apresentar efeito cancerígeno em humanos (GUYTON et al., 2015), bem como doenças pulmonares, perda de massa corpórea, diarreia e morte de ratos (ADAM et al., 1997). Além disso, pesquisas recentes demonstraram que o glifosato causa degeneração na camada de células de Purkinje podendo ocasionar disfunções locomotoras. A melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) é um hormônio produzido pelas células da glândula pineal de vertebrados e invertebrados (NETO; CASTRO, 2008). Está associada às funções de ritmo circadiano e à regulação fisiológica do organismo, ajustando e mantendo o relógio biológico. Essa substância apresenta ação antioxidante e vem sendo utilizada no tratamento de intoxicações e lesões causadas por herbicidas, especialmente o Glifosato-Roundup[®] (ALMEIDA et al., 2016). Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito neuroprotetor da melatonina sobre ratas prenhas expostas a herbicida a base de glifosato(Roundup[®]).

2 Material e Métodos:

Foram utilizadas 15 ratas albinas, com 90 dias de idade, pesando entre 200 ± 20 g. Estas foram acondicionadas em gaiolas com regime de alimentação (ração Purina-Labina) e água “*ad libitum*” em ambiente controlado. Após 10 dias de aclimação, as fêmeas foram submetidas a exames colpocitológicos, separadas aleatoriamente e acasaladas para a formação de três grupos experimentais ($n = 5$ cada). Em seguida foram submetidas à exposição ao herbicida e tratamento com melatonina. A exposição ao herbicida a base de glifosato (Roundup[®]) e tratamento com melatonina aconteceu do 8º ao 14º dia de prenhez, conforme segmento II recomendados pela EPA (1996). Assim, o grupo 1 – controle; Grupo 2 – ratas expostas as doses subletais de 500 mg/kg de peso corporal de Glifosato- Roundup[®] e Grupo 3 – ratas expostas ao herbicida e tratadas com melatonina 10 mg/kg de peso corporal. A dose de melatonina administrada foi de 10 mg/Kg de peso corporal (MELCHIORRI et al., 1995). Para a exposição aos herbicidas foram utilizadas diluições do produto comercial na dose de 500 mg/kg de glifosato-Roundup[®] de peso corporal dosagem definida a partir da NOEL-dose (1000mg/kg) (WILLIAMS et al., 2000). A exposição ao herbicida foi realizada entre 9 e 10 horas da manhã. Para análise quantitativa de células de Purkinje, as fêmeas foram anestesiadas através da administração de hidrocloreto de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6 mg/kg), por via intraperitoneal e submetidas à eutanásia, quando estas já estiverem sob anestesia ou em estado de coma, com 40 mg/kg de tiopental sódico por via intraperitoneal. Assim, ao 14º dia deprenhosos céfalos foram coletados por craniotomia, preservados em formaldeído a 10% tamponado por 24 horas. Logo após, foram lavadas em solução tampão PBS,

desidratadas em álcool em série crescente de concentração e incluídas em glicol metacrilato historesina (Historesin Leica[®]). Os cortes de 4 µm foram submetidos à técnica de coloração pela Hematoxilina - Eosina (H.E.) (ALMEIDA et al., 2017). Utilizado a metodologia (ALMEIDA et al., 2014). Para a estimativa da densidade por área dos perfis de corpos celulares de neurônios (células de Purkinje) no cerebelo foi de contagem aleatória simples (WEST, 1996; MANDARIM-DE- LACERDA, 2003). Todos os valores foram expressos como média ± erro padrão da média e analisadas pelo software SAS[®] for Windows versão 9.0. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo previamente testados para normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3 Resultados e Discussão

Os resultados revelam que houve redução no número de células de Purkinje do grupo exposto ao herbicida a base de glifosato (Roundup[®]), porém no grupo tratado com melatonina observamos atividades neuroprotetoras (Figura 2). ERHUNMWUNSE ET al., (2014) observaram degradação neuronal e vacuolização das células de Purkinje após exposição ao glifosato em peixes. Estes resultados poderiam explicar a redução no número de células de Purkinje como observado no grupo tratado com Roundup quando comparado ao grupo controle (Figura 2). A melatonina estimula a neurogênese e a sobrevivência neuronal, bem como à reabilitação motora (KILIC et al., 2008). Além disso, MANDA et al., (2008) observou a atividade neuroprotetora da melatonina em células de Purkinje sobre estresse oxidativo induzido por polissacarídeo. Assim, a melatonina pode estar envolvida como agente neuroprotetor à camada de células de Purkinje. O que explicaria prevenção da diminuição dessas células observados em nossos resultados.

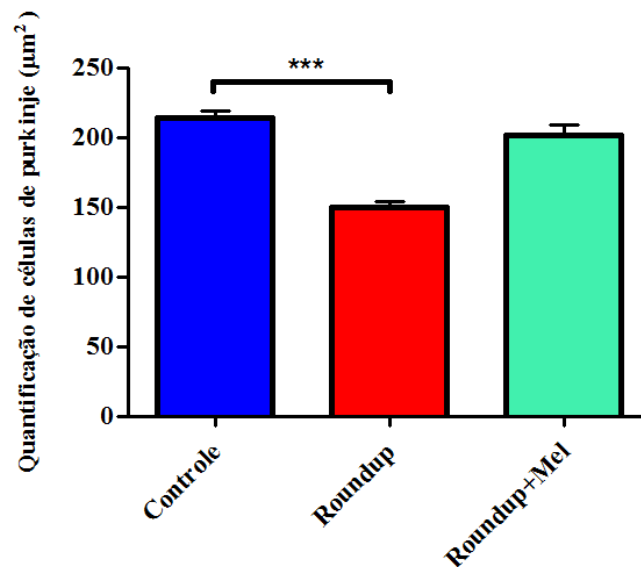


Figura 1: Grupos Barras sobre asteriscos diferem significativamente do controle pelo teste de Tukey (p < 0,05)

<0,001). Em (2) fotomicrografias da área cerebelar. Estudada correspondente a cada grupo.

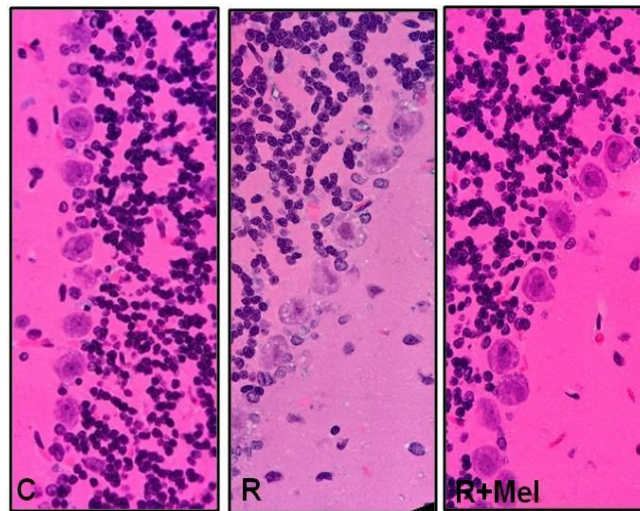


Figura 2. Quantificação de células de Purkinje dos grupos experimentais. Notar que houve uma redução no número de células de Purkinje do grupo Roundup quando comparado ao controle, porém no grupo Roundup+Mel os valores foram semelhantes aos do grupo controle.

4 Conclusões

Assim, com base nos resultados obtidos na presente pesquisa, pode-se concluir que o herbicida à base glifosato (Roundup[®]) apresentou interferência na área cerebelar, diminuindo o número de células de Purkinje, porém no grupo tratado com melatonina houve atividade neuroprotetora.

5 Agradecimentos e apoios

PIBIC-URCA

6 Referências

ALMEIDA, L. L.; TEIXEIRA, A.A. C.; WANDERLEI-TEIXEIRA, V. W. Histopathological

Analysis of the small intestine of pregnant rats exposed to sub-lethal doses of herbicides and treated with melatonin. **Experimental Pathology and Health Sciences**, v.6, p. 63, 2014.

ALMEIDA, L. L.; TEIXEIRA, A. A. C.; BEZERRA, N. S.; TEIXEIRA, V. W. Efeito protetor da melatonina sobre intoxicações por herbicidas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n.3, p.174-180, 2016;

APFEL, M. I. R.; ÉSBERARD, C. A.; RODRIGUES, F. K. P.; BAHAMAD JÚNIOR, F.M.; SILLERO, R. O. Estudo Estereológico das Células de Purkinje Cerebelares submetidas à Intoxicação Alcoólica em ratos Wistar. **Arquivo de Neuropsiquiatria**, v. 60, n. 2 A, p. 258-263, 2002.

CROSSMAN, A. R.; NEARY, D. **Neuroanatomia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

EPA - U.S Environmental Protection Agency 1996. Guidelines for reproductive toxicity risk assessment. Report no. EPA/630/R-96/009. **Risk Assessment Forum**, v. 56 p.63798- 63826, 1991.

MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Stereological tools in biomedical research. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.75, n. 4, p. 469-486, 2003.

MELCHIORRI, D.; REITER, R. J.; ATTIA, A. M.; HARA, M.; BURGOS, A.; NISTICO,

G. Potent protective effect of melatonin on in vitro paraquat-induced oxidative damage in rats.

Life Sciences, v. 56, n. 2, p. 83-89, 1995.

KILIC, E.; KILIC, U.; BACIGALUPPI, M.; GUO, Z.; ABDALLAH, N. B.; WOLFER, D. P.; REITER, R. J.; HERMANN, D. M.; BASSETTI, A. Delayed melatonin administration promotes neuronal survival, neurogenesis and motor recovery, and attenuate hyper- activity and anxiety after mild focal cerebral ischemia in mice. **Journal of Pineal Research**, v. 45, p. 142–148, 2008.

MANDA, K.; UENO, M.; ANZAI, K. Melatonin mitigates oxidative damage and apoptosis in mouse cerebellum induced by high-LET⁵⁶Fe particle irradiation. **Journal of Pineal Research**, v. 44, p. 189-196, 2008.

WEST, M. J. New Stereological Method for Counting Neurons. **Neurobiol Aging**, v. 14 p. 275-85, 1993.

WILLIAMS, G. M.; KROES, R., MUNRO, L. C. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 3, n. 2, p. 118-165, 2000.