

Alaan Ubaiara Brito  
Cris Evelin da Costa Dalmácio  
Helena Cristina Guimarães Queiroz Simões  
(Organizadores)

TEXTOS DE:

Jennifer Thayanne Cavalcante de Araújo  
Aneli Mercedes Celis de Cárdenas  
Francisco Fábio Oliveira de Sousa  
Ariely Nunes Ferreira de Almeida  
Alberto Gomes Tavares Junior  
Ana Rita Pinheiro Barcessat  
Darllen Suzanny Barbosa  
Dannielle Sousa da Silva  
Felipe Ferreira Rêgo  
Cássio Lima Esteves  
Clarissa Silva Lima  
Kamila Ayres Queiroz  
Tamara Silva De Sousa  
Rodrigo Pinto da Costa  
Lethicia Barreto Brandão  
Naima Pontes D'haveloose  
Rodrigo Alves Soares Cruz  
Letícia de Oliveira Machado  
Nathália dos Santos Piedade  
Madson Ralide Fonseca Gomes  
Quelly de Kássia Almeida Santos  
Taynara Camille Guilherme Lima  
Mônica Silvia Rodrigues de Oliveira

CIÊNCIAS DA SAÚDE:  
RESULTADOS DOS  
PROJETOS DE  
INICIAÇÃO  
CIENTÍFICA DA  
UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO AMAPÁ  
(2012-2016)





*Alaan Ubaiara Brito*  
*Tris Evelin da Costa Dalmácio*  
*Helena Cristina Guimarães Queiroz Simões*  
(Organizadores)

**CIÊNCIAS DA SAÚDE: RESULTADOS DOS  
PROJETOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ  
(2012-2016)**

Copyright © 2017, Autores

**Reitora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliane Superti  
**Vice-Reitora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adelma das Neves Nunes Barros Mendes  
**Pró-Reitora de Administração:** Wilma Gomes Silva Monteiro  
**Pró-Reitor de Planejamento:** Prof. Msc. Allan Jasper Rocha Mendes  
**Pró-Reitor de Gestão de Pessoas:** Emanuelle Silva Barbosa  
**Pró-Reitora de Ensino de Graduação:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Margareth Guerra dos Santos  
**Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Helena Cristina Guimarães Queiroz Simões  
**Pró-Reitor de Extensão e Ações Comunitárias:** Prof. Dr. Rafael Pontes Lima  
**Pró-Reitor de Cooperação e Relações Interinstitucionais:** Prof. Dr. Paulo Gustavo Pellegrino Correa

**Diretor da Editora da Universidade Federal do Amapá**  
Tiago Luedy Silva

**Editor-chefe da Editora da Universidade Federal do Amapá**  
Fernando Castro Amoras

#### Conselho Editorial

Ana Paula Cinta	Luís Henrique Rambo
Artemis Socorro do Nascimento Rodrigues	Marcus André de Souza Cardoso da Silva
César Augusto Mathias de Alencar	Maria de Fátima Garcia dos Santos
Claudia Maria do Socorro Cruz Fernandes Chelala	Patricia Helena Turola Takamatsu
Daize Fernanda Wagner Silva	Patrícia Rocha Chaves
Elinaldo da Conceição dos Santos	Robson Antônio Tavares Costa
Elizabeth Machado Barbosa	Rosilene de Oliveira Furtado
Elza Caroline Alves Muller	Simone de Almeida Delphim Leal
Jacks de Mello Andrade Junior	Tiago Luedy Silva
Jose Walter Cárdenas Sotil	

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

B862c Ciências da Saúde : resultados dos projetos de iniciação científica da Universidade Federal do Amapá (2012-2016) / Organização de Alaan Ubaiara Brito, Cris Evelin da Costa Dalmácio e Helena Cristina Guimarães Queiroz Simões. - Macapá : UNIFAP, 2017. 260 p. : il.; 210x280mm.

ISBN: 978-85-62359-64-4

1. Ciências da Saúde. 2. Epidemiologia. 3. Farmácia - Medicamentos. I. Brito, Alaan Ubaiara. II. Dalmácio, Cris Evelin da Costa. III. Simões, Helena Cristina Guimarães Queiroz. IV. Fundação Universidade Federal do Amapá. V. Título.

CDD 610

**Capa, Editoração e Diagramação:** Fernando Castro Amoras

Editora da Universidade Federal do Amapá  
Site: [www2.unifap.br/editora](http://www2.unifap.br/editora) | E-mail: [editora@unifap.br](mailto:editora@unifap.br) | Telefone (96) 4009-2801  
Endereço: Rodovia Juscelino Kubitschek, Km 2, s/n, bairro Universidade, Macapá-AP, CEP: 68.903-419

Todos os textos publicados neste livro foram reproduzidos de cópias fornecidas pelos autores. O conteúdo dos mesmos é de exclusiva responsabilidade de seus autores. Os organizadores não se responsabilizam por consequências decorrentes de uso de quaisquer dados, afirmações e opiniões inexatas (ou que conduzam a erros) publicados neste livro. É permitida a reprodução parcial ou total dos textos, desde que seja citada a fonte.

## SUMÁRIO

<b>Apresentação .....</b>	<b>05</b>
HELENA CRISTINA GUIMARÃES QUEIROZ SIMÕES	
<b>Análise cognitiva e funcional de pessoas idosas com diabetes do tipo II assistidas no serviço de atenção básica à saúde .....</b>	<b>07</b>
CÁSSIO LIMA ESTEVES & MÔNICA SILVIA RODRIGUES DE OLIVEIRA	
<b>Avaliação da estabilidade de gel cremoso contendo extrato de <i>Curatella americana</i>.....</b>	<b>19</b>
KAMILA AYRES QUEIROZ & FRANCISCO FÁBIO OLIVEIRA DE SOUSA	
<b>Avaliação da funcionalidade de coloides carregados com óleo de copaíba como protetores da superfície dentária .....</b>	<b>41</b>
JENNIFER THAYANNE CAVALCANTE DE ARAÚJO & DARLLEN SUZANNY BARBOSA & FRANCISCO FÁBIO OLIVEIRA DE SOUSA	
<b>Avaliação da presença de ovos e larvas de parasitas intestinais em praças no município de Macapá-AP .....</b>	<b>53</b>
FELIPE FERREIRA RÊGO & MADSON RALIDE FONSECA GOMES	
<b>Avaliação da toxicidade da <i>Piper peltatum</i> L., uma planta antimalárica proveniente da biodiversidade amazônica .....</b>	<b>71</b>
RODRIGO PINTO DA COSTA & CLARISSA SILVA LIMA	
<b>Avaliação do potencial inseticida do óleo de <i>Copaifera officinalis</i> (Copaíba) frente à <i>Periplaneta americana</i> (barata doméstica) .....</b>	<b>91</b>
LETÍCIA DE OLIVEIRA MACHADO & MADSON RALIDE FONSECA GOMES	
<b>Desenvolvimento e caracterização de um gel cremoso reparador à base de <i>punica granatum</i> .....</b>	<b>101</b>
NATHÁLIA DOS SANTOS PIEDADE & ALBERTO GOMES TAVARES JUNIOR & FRANCISCO FÁBIO OLIVEIRA DE SOUSA	
<b>Desenvolvimento e caracterização de uma formulação a base de ácido anacárdico para a desinfecção do canal dentário .....</b>	<b>117</b>
JENNIFER THAYANNE CAVALCANTE DE ARAÚJO & FRANCISCO FÁBIO OLIVEIRA DE SOUSA	
<b>Estudo comparativo dos efeitos da terapia fotodinâmica e da laserterapia no processo de cicatrização e reparo de úlceras induzidas em modelos de roedores .....</b>	<b>129</b>
TAYNARA CAMILLE GUILHERME LIMA & ANA RITA PINHEIRO BARCESSAT	
<b>Estudo da Terapia fotodinâmica (PDT) na cicatrização e reparo de lesões ulcerativas: revisão de literatura e estudo de caso clínico .....</b>	<b>145</b>
LETHICIA BARRETO BRANDÃO & ANA RITA PINHEIRO BARCESSAT	

<b>Estudo do efeito da terapia fotodinâmica com azul de metileno no processo de cicatrização e reparo de lesões induzidas em modelos de roedores .....</b>	<b>165</b>
TAYNARA CAMILLE GUILHERME LIMA & ANA RITA PINHEIRO BARCESSAT	
<b>Identificação dos biomarcadores mais utilizados para a caracterização de células progenitoras/tronco durante o processo de carcinogênese em modelos experimentais de roedores .....</b>	<b>179</b>
TAYNARA CAMILLE GUILHERME LIMA & ANA RITA PINHEIRO BARCESSAT	
<b>Impacto do Diabetes <i>mellitus</i> na Qualidade de Vida de usuários de uma Unidade Básica de Saúde da cidade de Macapá, Amapá .....</b>	<b>189</b>
TAMARA SILVA DE SOUSA & ARIELY NUNES FERREIRA DE ALMEIDA	
<b>Nanodispersões de flavonoides de <i>Baccharis reticularia</i> DC com atividade inibidora da <math>\alpha</math>-amilase .....</b>	<b>209</b>
NAIMA PONTES D'HAVELOOSE & RODRIGO ALVES SOARES CRUZ	
<b>Perfil clínico-epidemiológico de pacientes com Diabetes <i>mellitus</i> usuários da Atenção Básica à Saúde .....</b>	<b>221</b>
QUELLY DE KÁSSIA ALMEIDA SANTOS & ARIELY NUNES FERREIRA DE ALMEIDA	
<b>Qualidade de vida do idoso na universidade aberta à terceira idade da Universidade Federal do Amapá: UMAP .....</b>	<b>233</b>
DANNIELLE SOUSA DA SILVA & ANNELI MERCEDES CELIS DE CÁRDENAS	
<b>Utilização do CD44 como marcadores de identificação de células tronco no processo de carcinogênese .....</b>	<b>253</b>
LETHICIA BARRETO BRANDÃO & ANA RITA PINHEIRO BARCESSAT	

## APRESENTAÇÃO

**A**presentamos, nesta coletânea, trabalhos de Iniciação Científica (IC) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), divididos em diferentes áreas do conhecimento, resultantes de projetos de pesquisa realizados entre os anos de 2012 a 2016.

A Iniciação Científica inaugura a inserção do jovem cientista no mundo da pesquisa. Ao percorrer, com o suporte de um(a) orientador(a), as experiências do processo investigativo, o ingressante na IC apreende/compreende novos conceitos e referências, metodologias específicas, formato próprio de escrita, atividades de campo e em laboratórios, participação em eventos científicos, dentre tantas outras atuações.

Na UNIFAP, os primeiros bolsistas de iniciação científica foram contemplados por meio de um edital divulgado em 2005, resultando em 17 ingressantes. No ano seguinte, em 2006, já regidos pelas normas do Programa de Iniciação Científica da UNIFAP - PROBIC, foram oferecidas outras 15 bolsas, somadas a 10 cotas provenientes do Programa Institucional de Iniciação Científica (PIBIC) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Gradativamente a iniciação científica seguiu consolidando-se e, em 2010, fora aprovado o Programa de Iniciação Voluntária (PROVIC), que regulamentou a atuação de alunos que desenvolviam ou tinham interesse em desenvolver atividades de pesquisa, ainda que sem aporte de bolsas. Naquela oportunidade, foram selecionados 25 voluntários de IC.

No ano de 2012, apoiados pelo CNPq, ofertamos, pela primeira vez, bolsas de Iniciação Científica para o Ensino Médio (PIBIC/EM) e bolsas de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (PIBITI).

Em 2016, a UNIFAP comemorou 10 anos promovendo, ano a ano, eventos cujo objetivo era divulgar os resultados das pesquisas de Iniciação Científica que, apesar de diferentes denominações como Seminário, Congresso ou Jornada, as principais características destes momentos foram a aproximação das instituições de pesquisa no Amapá, com a participação da UEAP, IEPA, Embrapa e IFAP, além da crescente inserção dos alunos com um nível cada vez mais elevado de qualidade dos trabalhos.

Em 2017, os números demonstram que os Programas de Iniciação Científica da UNIFAP e do CNPq ampliaram-se, e, hoje, são responsáveis pela consolidação da cultura científica entre os jovens no Estado do Amapá. Atualmente, temos 41 bolsistas PROBIC/UNIFAP; 46 bolsistas PIBIC/CNPq; 02 bolsistas PIBITI/CNPq; 05 bolsistas PIBITI/UNIFAP e 17 bolsistas PIBIC/EM/CNPq.

Em comemoração aos 11 anos das atividades de Iniciação Científica na Universidade Federal do Amapá surgiu a ideia de publicar este livro, que reúne resultados dos projetos de IC desenvolvidos entre 2012-2016. Os livros apresentam pesquisas em diferentes áreas, a saber: Ciências da Saúde, com 17 capítulos; Ciências Biológicas, com 14 capítulos; Educação e Linguística, com 10 capítulos; Ciências Humanas, com 07 capítulos; e Ciências Exatas, com 06 capítulos.

A ciência nasce da inquietação e da coragem. Estes ingredientes vêm mudando o mundo, global e localmente, cujo fim maior é o desenvolvimento da humanidade, com respeito ao meio ambiente e equilíbrio intergeracional. Os trabalhos que ora apresentamos propõem-se alcançar este objetivo e estimular outros jovens a produzir novos conhecimentos.

Macapá-AP, março de 2017.

**Helena Cristina Simões**

# ANÁLISE COGNITIVA E FUNCIONAL DE PESSOAS IDOSAS COM DIABETES DO TIPO II ASSISTIDAS NO SERVIÇO DE ATENÇÃO BÁSICA À SAÚDE

Cássio Lima Esteves<sup>1</sup>

Mônica Silvia Rodrigues de Oliveira<sup>2</sup>

**RESUMO:** O crescente aumento da expectativa de vida implica em mudança no perfil sociodemográfico, epidemiológico e do estado geral de saúde da população idosa, à qual predominantemente pode ser acometida por enfermidades como diabetes *mellitus*. Idosos com diabetes tendem a ter declínio da função motora e apresentam déficits cognitivos, o que tem sido motivo de preocupação e atenção nos serviços de assistência primária à saúde, sendo o diagnóstico precoce fundamental para melhor assistência e controle desta patologia e suas comorbidades. O objetivo desta pesquisa é Analisar a função cognitiva e funcional de idosos com diabetes *mellitus* tipo 2, assistidos em uma Unidade Básica de Saúde (UBS) da cidade de Macapá-AP; Participaram deste estudo exploratório e quantitativo, 33 idosos, selecionados de forma semialeatória, a partir de um convite em sala de espera da UBS; Foram subdivididos em 2 grupos: grupo com diabetes e grupo sem diabetes. Todos os participantes foram submetidos ao protocolo de avaliação por meio do Mini-Exame de Estado Mental (MEEM) para análise da função cognitiva e da Escala de Katz para a análise funcional de dependência para as atividades da vida diária. A análise dos resultados foi realizada através do software estatístico SPSS versão 17, considerando valores de  $p < 0,05$ . A média de idade dos participantes foi de  $64,8 \pm 5,7$  anos, com predomínio de mulheres (60,6% mulheres e 39,4% homens). O grupo de idosos do grupo com diabetes apresentaram pior desempenho na avaliação cognitiva quando comparado ao grupo sem diabetes ( $p < 0,01$ ). No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa na avaliação funcional e na correlação entre a avaliação cognitiva e funcional. Os idosos com diabetes apresentaram pior desempenho na avaliação cognitiva que aqueles sem a doença, sugerindo maior risco de prejuízo desta função para estes idosos. A atenção primária, por meio da atuação multiprofissional, incluindo a fisioterapia, tem exercido importante papel na assistência e controle do diabetes. Nosso estudo apoia que as avaliações para o rastreio de riscos cognitivos e funcionais, representam importantes ferramentas diagnósticas para o planejamento de ações estratégicas de prevenção e promoção da saúde do idoso.

**Palavras-Chave:** Idoso, Diabetes, Cognição, Funcionalidade e Atenção Básica.

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida e longevidade, vem sendo associado aos avanços nas condições de saúde, o que vem acompanhado com o aumento da população idosa bem como problemas de saúde associados ao processo natural do envelhecimento. Entre as doenças crônicas que surgem durante este pro-

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Fisioterapia da UNIFAP.

cesso, a Diabetes *Mellitus* (DM) tem sido apontada e os principais fatores de risco que contribuem para o aumento de sua incidência e prevalência estão associados com aspectos hereditários, o envelhecimento da população, adoção de estilo de vida pouco saudável, como: obesidade, sedentarismo e hábitos alimentares inadequados (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2005).

Formiga et al (2014), relata que a DM tem sido descrita como uma das epidemias do século 21, principalmente devido ao processo de envelhecimento da população, uma vez que o setor da população com o maior crescimento serão os da faixa etária de 80 anos. Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), o número de diabéticos no mundo passará de 171 milhões em 2000 para 366 milhões em 2030 e 2,9 milhões de óbitos por ano.

Um dos tipos mais comuns de DM e que acomete 90% dos casos é o tipo 2, causada pela resistência à insulina, a qual está frequentemente relacionada com o estilo de vida pouco saudável, envolvendo a disfunção de células  $\beta$  do pâncreas responsáveis pela síntese e liberação deste hormônio (KOEKKOEK, et al. 2015). Por se tratar de uma doença metabólica, o DM pode levar a diversas complicações crônicas tais como doença cardiovascular, nefropatia, retinopatia e neuropatia periférica. Além disso, estudos têm relatado a associações de DM tipo 2 com um risco aumentado de disfunção cognitiva em idosos (KOEKKOEK, et al. 2015; BROOKE et al. 2014; SPAUWEN, et al. 2015; ROBERTS, et al. 2014, KOEKKOEK, et al. 2012).

Neste sentido, estudos realizados por Fauber (2006) identificaram que pessoas com baixo controle da DM têm cerca de até 78% mais risco de desenvolver demência e o índice elevado de açúcar no sangue pode ser um fator importante para a incidência dessas demências e também de Doença de Alzheimer. Da mesma maneira, Luchsinger, et al. (2011), afirma que o controle do diabetes pode estar associado a um menor declínio cognitivo global em idosos acometidos por diabetes.

Outros estudos mostraram que pessoas com diabetes tipo 2 tem duas vezes mais risco para desenvolver disfunção cognitiva do que pacientes sem diabetes e que

o dano cognitivo pode afetar a qualidade de uma série de habilidades cognitivas (Kokkoek et al., 2015; Biessels, et al 2006; Cheng et al. 2012).

Segundo Brooke et al. (2014), o prejuízo cognitivo em pacientes com DM também pode estar associado à falta de auto-cuidado, incluindo a adesão aos medicamentos específicos, dieta adequada, exercício físico e controle da doença, e este último segundo. Além disso, a população idosa tende a ter declínio das funções motora e cognitiva devido ao processo natural de envelhecimento, o que tem sido motivo de preocupação e atenção nos serviços de assistência primária à saúde somado à DM.

Por decorrência destes fatos a DM tem sido considerado Condição Sensível à Atenção Primária, ou seja, evidências demonstram que o bom manejo deste problema ainda na Atenção Básica evita hospitalizações e mortes por complicações cardiovasculares e cerebrovasculares e conseqüentemente suas sequelas funcionais.

Neste sentido, um estudo que analisasse a função cognitiva e funcional de idosos com DM tipo 2 usuários do serviço de atenção básica à saúde, poderia elucidar mais a respeito deste assunto, conhecendo mais sobre o perfil populacional somado à identificação dos fatores cognitivo e funcional apontados que sugerem grande risco a estes usuários.

## **2 OBJETIVO**

Analisar a função cognitiva e a funcional de idosos com diabetes *mellitus* tipo II, assistidos em um serviço de atenção básica à saúde da cidade de Macapá-AP.

## **3 METODOLOGIA**

### TIPO DE ESTUDO

Este estudo segue um delineamento do tipo exploratório e quantitativo.

### AMOSTRA e COLETA DE DADOS

Foram avaliados idosos usuários dos serviços de saúde da Unidade Básica de

Saúde Dr<sup>o</sup> Lélío Silva, localizado na Avenida José da Silva Castro, número 126, Bairro Novo Buritizal, CEP 68904-250, localizado na cidade de Macapá - AP. A seleção dos idosos ocorreu de forma semialeatoria, a partir de um convite para participação no estudo na sala de espera da referida UBS. Os dados coletados ocorreram no período de janeiro a abril de 2016.

### CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os seguintes critérios de inclusão para o estudo: idade superior ou igual à 60 anos, indivíduos de ambos os sexos e para os o grupo com diabetes; ter o diagnóstico confirmado por exames laboratoriais prévios nos prontuários e/ou por laudo médico superior a um ano. Excluiu-se do estudo indivíduos etilistas, usuários de drogas psicoativas, com distúrbios visuais ou auditivos incapacitantes, com sequelas neurológicas de AVE, bem como pacientes que não concordaram com o termo de consentimento livre e esclarecido.

### INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO

Foram utilizados 2 instrumentos na coleta de dados neste estudo além do Questionário Sócio Demográfico e Clínico: O Mini-Exame de Estado Mental (MEEM) para a avaliação da função cognitiva e a Escala de Katz para a análise da dependência nas atividades básicas da vida diária.

O MEEM é um instrumento que permite a avaliação geral da função cognitiva. É dividido em cinco seções que fornecem informações sobre diferentes aspectos cognitivos: orientação, memória imediata, atenção e cálculo, evocação e linguagem. Folstein et al (1975). Este instrumento permite o escore imediato por meio da soma dos pontos atribuídos a cada tarefa realizada com êxito, o qual varia de 0-30 pontos e a interpretação da pontuação final depende do nível educacional do idoso que Folstein et al (1975)

A Escala de Katz ou índice de Katz é amplamente utilizada para avaliar o desempenho do idoso nas atividades básicas da vida diária, baseia-se em funções prima-

rias biológicas e psicossociais e contem seis itens que medem o desempenho do indivíduo nas atividades de autocuidado: alimentação, controle de esfíncteres, transferência, higiene pessoal, capacidade para se vestir e tomar banho (LINO et al., 2008).

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados por meio do programa estatístico SPSS, versão 17.0. A análise descritiva foi feita por meio de números brutos, porcentagens, médias e desvio-padrão e medianas. Para verificar a normalidade dos dados, empregou-se o teste Shapiro-Wilk; e para a comparação entre os grupos, os testes qui-quadrado, t-student e Mann-Whitney. Para o estudo da correlação entre as variáveis, o coeficiente de correlação de Spearman. Os testes foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

### ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo obedece aos critérios da ética em pesquisa com seres humanos conforme Resolução n°. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIFAP, sendo aprovado sob parecer n° FR-456146/011.

Todos os participantes da pesquisa foram esclarecidos sobre os objetivos do estudo, bem como seus procedimentos e finalidades, tendo assim, como documento assinado por todos, um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE e autorização da direção da UBS Dr° Lélío Silva para coleta de dados em suas dependências físicas, por meio de um termo de autorização.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amostra foi composta por 33 idosos com média de idade de  $64,8 \pm 5,7$  anos, sendo a maioria mulheres, com 60,6% e 39,4% homens. Os idosos foram divididos entre dois grupos, com diabetes e sem diabetes, para efeitos de análise. As características de cada grupo que compôs a amostra do estudo estão descritas na tabela 1.

Tabela 1. Características sociodemográficas e clínicas.

CARACTERÍSTICA	GRUPO COM DIABETES (n=16)	GRUPO SEM DIABETES (n=17)	TOTAL (n=33)
<b>IDADE</b>			
MÍNIMO	60	60	60
MÁXIMO	80	75	80
MÉDIA	65,05	63,29	64,8
DESVIO PADRÃO	6,75	5,18	±5,7
<b>GÊNERO</b>			
FEMININO (%)	56,25%	47,05%	39,4%
MASCULINO (%)	43,75%	52,94%	60,6%
<b>DIAGNÓSTICO DA DOENÇA (média em anos)</b>			
ESCOLARIDADE (em anos)			
ANALFABETO	3	3	6
FUNDAMENTAL INCOMPLETO	8	7	15
FUNDAMENTAL COMPLETO	1	0	1
MÉDIO INCOMPLETO	1	1	2
MÉDIO COMPLETO	2	3	5
SUPERIOR INCOMPLETO	0	0	0
SUPERIOR COMPLETO	1	3	4
PÓS GRADUAÇÃO	0	0	0
<b>PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA (n° de participantes)</b>			
Sim	3 (18,75%)	0	3
Não	13 (81,25%)	17 (100%)	30
<b>DIETA EQUILIBRADA (n° de participantes)</b>			
Sim	12 (75%)	0	12 (36%)
Não	4 (25%)	17 (100%)	21 (64%)

A média geral de escolaridade foi de 64,8 anos. E o tempo de diagnóstico da doença foi de 7,4 anos. Quanto aos dados sobre prática de atividade física e dieta equilibrada - indicadores de estilo de vida saudável, cerca de 10% do total geral de participantes praticam atividade física, sendo todos pertencentes ao grupo com diabetes e quanto aos hábitos de alimentação saudável foi observado que apenas 36% fazem uso de dieta equilibrada, sendo estes participantes pertencentes ao grupo com diabetes

Os limites dos resultados deste estudo estão relacionados ao desenho observacional do estudo que não permite estabelecer associação entre causa e efeito, mas apontam para a necessidade de otimizar ações que intervenham na prevenção de complicações do DM, relacionados à função cognitiva e funcional.

A média de idade dos usuários da UBS - local do estudo na cidade de Macapá, do grupo com diabetes foi em torno de 65 anos. Vale salientar que o DM, assim como

as demais doenças crônicas, tem sua prevalência aumentada em pessoas acima de 50 anos de idade e tem crescido de forma significativa, sendo a doença crônica não transmissível que mais cresce, principalmente nos países em desenvolvimento. Dados da INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (2012) que estipulam projeções sobre DM, mostram que em países em desenvolvimento, haverá ocorrência de relevante aumento nos grupos entre 45 a 64 anos e acima de 65 anos em comparação com as demais faixas etárias.

Quanto ao gênero, dados do Ministério da Saúde (2006), tem mostrado que apesar do aumento de casos entre os homens, de 4,4%, em 2006 para 5,2%, em 2011, as mulheres apresentaram uma maior proporção da doença, correspondendo a 6% dessa população, corroborando com os dados observados neste estudo, sobre a predominância de 56% do sexo feminino entre os participantes do grupo com diabetes.

Sobre a escolaridade observada em nosso estudo, cerca de 45% em média geral dos participantes, estudou até o fundamental incompleto, fato esperado para a população idosa, devido ao fato de que décadas atrás, haviam poucas possibilidades da prática do estudo, além da dificuldade ao acesso à educação, sobretudo às mulheres em decorrência do papel que exerciam na sociedade em relação à prática de tarefas domésticas (PACHECO, 2004). Além disso, dados do Ministério da Saúde (2013), apontam que 7,5% de pessoas com até 8 anos de estudos possuem diabetes, sendo este tempo referente aos anos de estudos do fundamental completo. A baixa escolaridade de pessoas com diabetes tem sido considerada por alguns autores como determinante para usuários que necessitam de um plano de cuidado elaborado sobre o controle do DM, podendo interferir no efeito de aprendizagem dos cuidados relacionados (SACERDOTE, et al. 2012). A baixa escolaridade pode dificultar a compreensão do usuário acerca dos cuidados essenciais para o controle da doença e a prevenção das complicações (GENZ, 2012; AGARDH, 2011)

Em nosso estudo o tempo de diagnóstico para a DM foi de 7,4 anos. Estudos tem mostrado que a relação do tempo da doença associado à idade representam mai-

or risco para complicações na DM. Um estudo mostrou a associação entre tempo de doença e a presença de complicações no DM intermediada pela idade, visto que o percentual de idosos entre os que tinham a doença há mais de 10 anos era maior do que o percentual dos que tinham a doença a menos de cinco anos (SPIJKERMAN, et al. 2003).

Nas variáveis observadas neste estudo associadas a hábitos de vida saudável como prática de atividade física e dieta equilibrada, foi observado que apenas cerca de 10% do total geral dos idosos participantes praticam atividade física, sendo todos pertencentes ao grupo com diabetes; e quanto aos hábitos de alimentação saudável foi observado que apenas 36% fazem uso de dieta equilibrada, sendo estes participantes também do grupo com diabetes. Esta realidade demonstra a relação do processo de envelhecimento e hábitos poucos saudáveis adotados pela população brasileira como dieta inadequada e o sedentarismo, mesmo na presença da DM, o que pode levar ao aparecimento de complicações, que se agravam nas pessoas que não realizam as atividades de autocuidado relacionadas à prática de atividade física e à alimentação correta, além do uso de medicamentos quando necessários (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2013).

## ANÁLISE COGNITIVA

A análise cognitiva realizada por meio do MEEM, demonstrou que os idosos do grupo com diabetes apresentaram pior desempenho na avaliação cognitiva quando comparado ao grupo sem diabetes ( $p < 0,01$ ) no escore geral de pontuação do MEEM, como mostra a tabela 2 abaixo.

Tabela 2: Resultados obtidos na análise cognitiva por meio do MEEM.

MEEM	GRUPO COM DIABETES (n=16)	GRUPO SEM DIABETES (n=17)	VALOR DE P
MEEM TOTAL	22,44 ± 3,3	25,29 ± 2,6	0,01*
ORIENTAÇÃO	9,87 ± 0	10 ± 0	0,1
RETENÇÃO DADOS	2,62 ± 0,8	3 ± 0	0,1
CALCULO	1,12 ± 1,45	1,82 ± 1,84	0,1
MEMÓRIA	1,18 ± 1,22	2,52 ± 0,7	0,1
LINGUAGEM	8 ± 1,21	7,94 ± 0,96	0,1

\*P<0,01 Teste T para valores de média e desvio padrão.

Estudos tem mostrado a associação do DM com disfunção cognitiva. Segundo Koekkoek et al (2015), pessoas com diabetes tipo 2 tem duas vezes mais disfunção cognitiva do que pacientes sem diabetes e o dano cognitivo pode afetar a qualidade de uma série de funções. Brooke et al., (2014), também associou o DM com disfunção cognitiva e ocorrência de demência. Sendo o controle da doença, aspecto fundamental para evitar a complicação na função cognitiva. Tem sido apontado a necessidade dos profissionais da saúde executarem planejamentos estratégicos e programas de atendimentos específicos afim de promover maneiras para o controle metabólico da DM, evitando assim suas complicações (GINTER; SIMKO, 2012; PAIM et al., 2011).

## ANÁLISE FUNCIONAL

Os resultados da análise funcional realizada por meio da aplicação do Índice de Katz, para verificação do grau de dependência para as atividades da vida diária, demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo com diabetes comparado ao grupo sem diabetes (Tabela 3).

Tabela 3: Resultados obtidos na análise funcional por meio da Escala de Katz. Valores expressos em mediana.

ESCALA DE KATZ	GRUPO COM DIABETES	GRUPO SEM DIABETES	VALOR DE P
ESCORE GERAL	§ 5,8 ± 0,05	6 ± 0	0,139
Banho	# 127,5	1 ± 0	0,303
Vestir	# 127,5	1 ± 0	0,303
Utilização do Sanitário	§ 1 ± 0	1 ± 0	-
Transferência	§ 1 ± 0	1 ± 0	-
Continência	# 127,5	1 ± 0	0,303
Alimentação	§ 1 ± 0	1 ± 0	-

§ valores expressos em média e desvio padrão. # Valores expressos em Mediana. Ambos valores para p<0,05. Teste de Mann-Whitney para comparação entre os grupos.

Estudos tem mostrado importante correlação da DM com o comprometimento da funcionalidade e qualidade de vida em função dos efeitos da doença e de suas complicações, principalmente na faixa etária acima de 60 anos. A funcionalidade se refere à potencialidade para realização das atividades de vida diária ou para cumprir determinado ato sem necessidade de ajuda. A disfunção ou perda dessa capacidade

entre idosos e idosos com diabetes pode acarretar em situações como: dependência, institucionalização, fragilidade e alterações na mobilidade (GUIMARAES, et al., 2004; CASTRO et al., 2008; SANTOS et al., 2009; FRANCHI, et al. 2008).

Embora não tenha sido observado alterações significativas em relação à análise funcional no nosso estudo, vale salientar que o Índice de Katz é um instrumentos bastante utilizado para avaliar as atividades da vida diária e para avaliar a capacidade funcional de pessoas idosas. No entanto, com o aumento da expectativa de vida e com o avanço de estudos que buscam promover a qualidade de vida, a prevalência de idosos mais ativos e independentes mesmo na presença de doenças crônicas como o diabetes, aumenta cada vez mais, sendo necessário que os serviços de saúde conheçam o perfil desta população em cada região, para compreender melhor suas peculiaridades (MILLÁN-CALENTI, et al 2010).

Outro aspecto importante mostrado em alguns estudos é a correlação da prevalência de disfunções para as atividades instrumentais da vida diária antecedendo o comprometimento para as atividades da vida diária. Hierarquicamente, as perdas ocorrem de atividades instrumentais de vida diária para atividades básicas de vida diária, devido exigência de maior integridade física e cognitiva para as tais (MILLÁN-CALENTI, et al 2010; SANTOS; PAVARINI, 2011; FREITAS ET AL, 2012). O que poderia justificar as alterações não observadas através da análise funcional em nosso estudo.

## CORRELAÇÃO ENTRE ANÁLISE COGNITIVA E FUNCIONAL

Os resultados obtidos através da análise cognitiva e funcional demonstram que não houve correlação entre a análise cognitiva e funcional, realizada entre os grupos com diabetes e sem diabetes.

**Tabela 4:** Resultados obtidos sobre a correlação entre as variáveis da análise cognitiva e análise funcional.

Variáveis	GRUPO COM DIABETES n=16		GRUPO SEM DIABETES n=17	
	r	Valor de p	r	Valor de p
MEEM X KATZ	-0,26	0,924	0,165	0,358

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os idosos com diabetes avaliados neste estudo apresentaram pior desempenho na avaliação cognitiva que aqueles sem a doença, sugerindo maior risco de prejuízo desta função para estes idosos.

Não foi observado grau de dependência para as AVDs na avaliação funcional ambos os grupos analisados, sugerindo que o Diabetes Mellitus Tipo 2 não está afetando as atividades de vida diária dos idosos participantes do estudo.

Não houve correlação do prejuízo cognitivo com a funcionalidade nos grupos estudados.

A atenção primária, por meio da atuação multiprofissional, incluindo a fisioterapia, tem exercido importante papel na assistência e controle do diabetes. Nosso estudo apoia que as avaliações para rastreio de risco de disfunções cognitivas e funcionais representam importantes ferramentas diagnósticas para o planejamento de ações estratégicas de prevenção e promoção da saúde do idoso.

## REFERÊNCIAS

- AGARDH, et al. Burden of type 2 diabetes attributed to lower educational levels in Sweden. **Popul Health Metr.** 2011;9:60.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care.** 2013; 36(1 Supl):11-66. 7.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Diabetes Mellitus / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2006. 64 p. il. – **Cadernos de Atenção Básica, n. 16** (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- BROOKE, et al. Cognitive screening in patients with diabetes in primary care. **British Journal of Community Nursing.** August 2014 Vol 19, n 8.
- CASTRO, et al. Qualidade de vida em diabetes mellitus e classificação internacional de funcionalidade, incapacidade e saúde - estudo de alguns aspectos. **Revista Acta Fisiátrica,** São Paulo: v. 15, n. 1, p. 13-17, mar. 2008.
- FORMIGA, et al. Diabetes Mellitus as a Risk Factor for Functional and Cognitive De-

- cline in Very Old People: The Octabaix Study. **JAMA** (2014).
- FRANCHI, et al. Capacidade funcional e atividade física de idosos com diabetes tipo 2. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, Londrina: v. 13, n. 3, p. 158-166, set./dez. 2008.
- FREITAS, et al. (2012). Capacidade funcional e fatores associados em idosos: estudo populacional. **Acta Paul Enferm** 2012; 25(6):933-939.
- GENZ, et al. Socioeconomic factors and effect of evidence-based patient information about primary prevention of type 2 diabetes mellitus - are there interactions? **BMC Res Notes**. 2014;7(1):541. 14.
- GUIMARÃES, et al. Avaliação da capacidade funcional de idosos em tratamento fisioterapêutico. **Revista Neurociências**, São Paulo: v. 12, n. 3, p. 130-133, jul./set. 2004.
- KOEKKOEK, et al. Undiagnosed cognitive impairment, health status and depressive symptoms in patients with type 2 diabetes. **Journal of Diabetes and Its Complications**. 2015.
- KOEKKOEK, Paula S.; KAPPELLE, L. Jaap; BERG, Esther van den; RUTTEN, Guy E.H.M; BIESSELS, Geert Jan Biessels. Cognitive function in patients with diabetes mellitus: guidance for daily care. **Lancet Neurol**. 2015
- MILLÁN-CALENTI, et al. Prevalence of functional disability in activities of daily living (ADL), instrumental activities of daily living (IADL) and associated factors, as predictors of morbidity and mortality. **Arch Gerontol Geriatr** 2010; 50(3):306-310.
- ROBERTS, et al. Association of diabetes with amnesic and nonamnesic mild cognitive impairment. **The Alzheimer's Association** 2014.
- SACERDOTE, et al. Lower educational level is a predictor of incident type 2 diabetes in European countries: the EPIC-Inter. **Act study. Int J Epidemiol**. 2012; 41(4):1162-73. 13.
- SANTOS, I, et al. Comorbilidade e funcionalidade - estudo observacional de um coorte de doentes. **Acta Médica Portuguesa**, Lisboa: v, 22, n. 6, p. 779-788, nov./dez. 2009.
- SANTOS; PAVARINI. Functionality of elderly people with cognitive impairments in different contexts of social vulnerability. **Acta Paul Enferm** 2011; 24(4):520-526.
- SPAUWEN, et al. Associations of Advanced Glycation End-Products With Cognitive Functions in Individuals With and Without Type 2 Diabetes: The Maastricht Study. **Endocrine Society**. 2014, p. 2014-2754.

# AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE GEL CREMOSO CONTENDO EXTRATO DE CURATELLA AMERICANA

Kamila Ayres Queiroz<sup>1</sup>

Francisco Fábio Oliveira de Sousa<sup>2</sup>

**RESUMO:** A incorporação de extratos vegetais em formas farmacêuticas requer uma avaliação criteriosa, no que se deve considerar, dentre outros, a compatibilidade dos componentes no sistema, condições de armazenamento, escolha dos solventes e demais insumos utilizados na formulação, temperatura de incorporação, além do material de acondicionamento e embalagem. Os estudos de estabilidade devem ser realizados durante o processo de desenvolvimento de um novo produto e antes de disponibilizá-lo ao consumo, requisito fundamental à qualidade e à segurança. Deve-se ainda garantir a estabilidade da formulação durante o prazo de validade, através da manutenção das especificações previamente estabelecidas. Deste modo, o presente trabalho avaliou o desempenho e as características de qualidade da forma farmacêutica gel cremoso em incorporar extrato de *Curatella americana*, cujas propriedades terapêuticas está voltada ao processo de cicatrização de feridas. As formulações foram submetidas a um estudo de estabilidade acelerada, sob diferentes condições de armazenamento: temperatura ambiente (20-25 °C); geladeira (3-8 °C) e estufa (40 ± 2 °C), sendo avaliadas após intervalos de tempo pré-determinados (24 horas, 30 e 90 dias) as seguintes características: aparência, cor, odor, densidade, pH, viscosidade e espalhabilidade. Realizaram-se ainda testes adicionais de ciclo gelo-degelo de 21 dias e de estufa-centrífuga combinados de modo a respaldar a manutenção da integridade das formulações obtidas. Foi realizada ainda a avaliação da qualidade microbiológica, garantindo a adequação aos limites farmacopéicos. Os resultados foram satisfatórios em todos os testes, não sendo observadas alterações sensoriais, físicas e/ou físico-químicas, além do atendimento aos limites farmacopéicos estabelecidos em termos de quantificação e ausência de microrganismos patogênicos.

Palavras-chave: Estabilidade. Gel cremoso. Controle de qualidade. Fitoterápico. Curatella americana.

## 1 INTRODUÇÃO

A fitoterapia constitui uma forma de tratamento que vem crescendo visivelmente ao longo dos anos e, talvez o principal fator a contribuir para isto seja a evolução dos estudos científicos, particularmente os químicos e farmacológicos, que comprovam a eficácia das plantas medicinais.

A incorporação de extratos vegetais em formas farmacêuticas requer uma avaliação criteriosa, no que se deve considerar, dentre outros, a compatibilidade dos com-

---

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2013-2014.

<sup>2</sup> Orientador de iniciação científica. Professor do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

ponentes no sistema, condições de armazenamento, escolha dos solventes e demais insumos utilizados na formulação, temperatura de incorporação, além do material de acondicionamento e embalagem.

Nas formas farmacêuticas de uso tópico, é de fundamental importância nos estudos de pré-formulação a adequada escolha da base, na qual os princípios ativos serão incorporados, garantindo assim, a estabilidade e permeação necessárias à obtenção dos efeitos farmacodinâmicos. No cenário industrial, existem várias formas farmacêuticas tópicas para a incorporação de extratos vegetais, destacando-se os géis e cremes (emulsões), os quais são vastamente utilizados. A união destas duas formas farmacêuticas, cuja denominação é gel cremoso ou emulgel, torna possível obter um aspecto sensorial agradável, associado à permeação de princípios ativos mais satisfatória.

Os estudos de estabilidade devem ser realizados antes da disponibilização dos produtos ao consumo, sendo um requisito fundamental para a qualidade e segurança dos mesmos. Produtos disponíveis ao consumo e que apresentem problemas de estabilidade físico-química e/ou microbiológica, além de descumprirem os requisitos técnicos de qualidade, podem colocar em risco a saúde do consumidor e configurar infração sanitária. Pelo perfil de estabilidade de um produto, é possível avaliar seu desempenho, segurança e eficácia, além da sua aceitação pelo consumidor.

A *Curatella americana* é uma planta que se desenvolve principalmente no cerrado brasileiro, podendo ainda ser cultivada em outras áreas, tais como o bioma amazônico, sendo muito utilizada pela população.

Diante do exposto, o presente trabalho avaliará o desempenho e as características de qualidade da forma farmacêutica gel cremoso em incorporar extrato vegetal cujas propriedades terapêuticas estariam associadas ao processo de cicatrização de feridas.

## 2 METODOLOGIA

O extrato seco de *Curatella americana* foi gentilmente cedido pelo Laboratório de Toxicologia da Universidade Federal do Amapá, sendo obtido da seguinte maneira: as folhas da planta recém coletadas foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante à temperatura de 40 °C, para impedir a ação enzimática e, assim, evitar a alteração dos compostos químicos originalmente presentes no vegetal. Posteriormente, pulverizou-se o vegetal em moinho até a obtenção de um pó fino, ao qual foi adicionada uma solução hidroetanólica a 70% na proporção de 1:3, sendo a mistura então agitada manualmente por 5 minutos a cada 2 horas durante 12 horas e filtrada a seguir com algodão em funil de vidro simples por 3 vezes consecutivas. O extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Fisaton 802®, São Paulo-SP), em temperatura de 50°- 55°C, para a eliminação total do solvente, sendo complementado por liofilização. O extrato seco obtido foi incorporado a formulação em estudo.

A forma farmacêutica gel cremoso inscrita no Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira foi utilizada para incorporação do extrato vegetal (BRASIL, 2005), a qual apresenta característica evanescente e não oleosa, sendo a base composta por:

<i>Poliacrilamida, C<sub>13-14</sub>isoparafina e álcool laurílicoetoxilado</i>	7 OE.....	4%
<i>Solução conservante de parabenos</i> .....		3,3%
<i>Solução conservante de imidazolidinil ureia a 50%</i> .....		0,6%
<i>Água destilada</i> q.s.p.		100%.

### INCORPORAÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS A BASE

Os extratos liofilizados foram dissolvidos em água destilada estéril contendo as soluções de conservantes, na qual foi incorporada a base autoemulsionante do gel cremoso. A mistura dar-se-á em grau e pistilo até a obtenção da consistência requerida (PRISTA; ALVES; MORGATO, 1990; VELASCO-DE-PAULA; RIBEIRO, 2001). Foi preparada ainda uma base desprovida de extrato para ser utilizada como controle.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO DAS FORMULAÇÕES

Após a finalização do processo de preparação, as formulações foram acondicionadas em recipientes plásticos monodose hermeticamente fechados. O teste foi realizado em três etapas, após 24 horas, 30 e 90 dias.

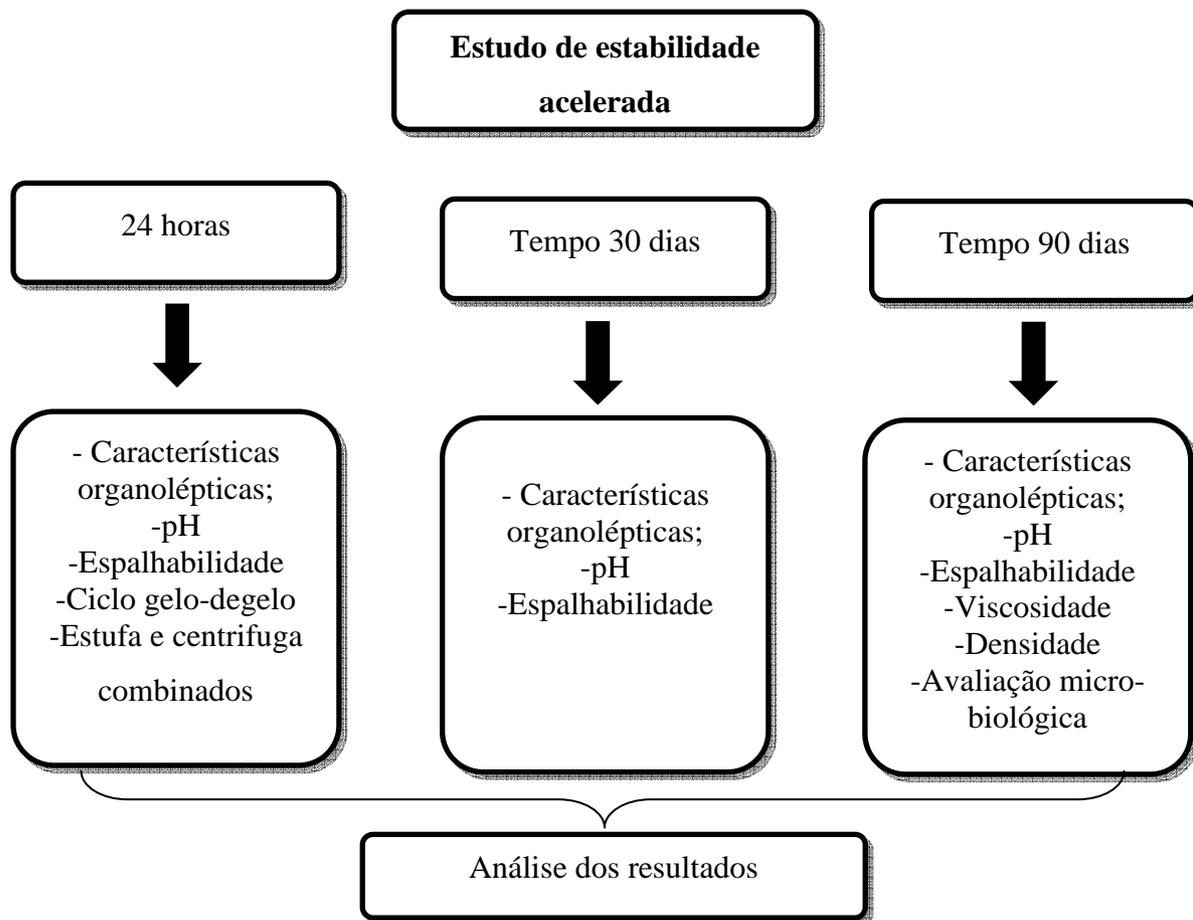
### TESTES DE ESTABILIDADE ACELERADA

Estudo de estabilidade acelerada tem o conceito acelerar o índice de degradação química e física da substância ativa do medicamento, utilizando condições extremas de acondicionamento (FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

Visa conferir a formulação, condições para o envelhecimento acelerado, permitindo definir o perfil de estabilidade física, físico-química, química e microbiológica. Trata-se então de um teste de orientação, indicando se os veículos em estudo conferem a estabilidade adequada (BRASIL, 2005).

As amostras foram submetidas a estudos de estabilidade acelerada de acordo com os procedimentos descritos no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (2004). Foram alocadas à temperatura ambiente (25 °C); geladeira (4°C) e estufa (40 °C), onde foram avaliados: cor, odor, pH, viscosidade, espalhabilidade e densidade no período de 24 horas, 30 e 90 dias, após a obtenção da formulação. Para cada condição testada, foi utilizada uma amostra de cada formulação, contendo aproximadamente 30 gramas.

**Ilustração 1** – Fluxograma do teste de estabilidade acelerada das formulações de gel cremoso base e de gel cremoso com extrato de *Curatella americana*.



### Aparência, cor e odor

Realizaram-se análises das características organolépticas, incluindo coloração, odor, aspecto visual (homogeneidade e consistência). O teste foi realizado através da inspeção visual e percepção direta da amostra, verificando-se a ocorrência de modificações em relação ao padrão estabelecido.

Definindo-se como referência a amostra mantida sob-refrigeração. Para a avaliação da aparência, foram observados os diferentes níveis de alteração categorizados em: (I) normal, sem alteração; (II) levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo e (III) separado, precipitado ou turvo. A graduação dos níveis de alteração da cor e odor observada na formulação foi classificada de acordo com os seguintes critérios: (I) normal sem, alteração; (II) levemente modificada; (III) modificada e (IV) intensamente modificada (BRASIL, 2004).

## **pH**

Determinou-se o pH de por meio de técnica potenciométrica (SCHOTT Fiel-dLab pH), com previa calibração do aparelho na faixa de pH de 4,0 e 7,0, através da inserção direta do eletrodo na amostra a temperatura ambiente (25°C).

## **Ciclo gelo-degelo**

Neste teste, as amostras foram expostas a condições distintas de temperatura, ou seja, num período de tempo o produto foi armazenado na geladeira e, no outro, em estufa, ocorrendo alternância periodicamente até o prazo preestabelecido (BRASIL, 2004).

As amostras foram colocadas em estufa a 40° C por um período de 7 dias, sendo transferidas para geladeira, onde permaneceram por mais 7 dias e, então, retornaram à estufa pelo mesmo período. Ao final deste ciclo, as amostras foram submetidas à ação de centrífuga a 3000 rpm durante 45 minutos e avaliadas de acordo com os seguintes critérios: (I) sem separação de fases; (II) leve separação de fases; (III) notável separação de fases; (IV) produto com 50% de separação e (V) produto com mais de 50% de separação (BRASIL, 2004).

## **Estufa e centrífuga combinados**

Este teste tem por finalidade aumentar abruptamente a força de gravidade, aumentando a movimentação das partículas, e gerar condição favorável para se observar uma possível instabilidade (BRASIL, 2004). Tem por objetivo produzir estresse na amostra, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis instabilidades. Essas poderão ser observadas na forma de precipitação, separação de fases, coalescência entre outras (BONTORIM, 2009).

As amostras foram colocadas em estufa a 40 °C e após 24 e 168 horas, as alíquotas foram submetidas à ação da centrífuga durante 1 hora a 3000 rpm, onde foram a-

validadas macroscopicamente de acordo com os critérios: (I) sem separação de fases; (II) leve separação de fases; (III) notável separação de fases; (IV) produto com 50% de separação e (V) produto com mais de 50% de separação (BRASIL, 2004).

### Determinação da espalhabilidade

Empregou-se a metodologia descrita por Knorst (1991), que utiliza placas de vidro sobre uma escala de papel milimetrado para determinar a superfície que a amostra abrange através da medição dos diâmetros perpendiculares, com posterior cálculo do diâmetro médio. A espalhabilidade ( $E_i$ ), a  $24 \pm 2$  °C, foi calculada a partir da equação 1:

$$E_i = [(d^2) \cdot \pi] / 4 \quad (1)$$

Considerando-se como  $E_i$  (mm<sup>2</sup>) a espalhabilidade da amostra para peso  $i$  e  $d$  o diâmetro médio (mm) alcançado pela amostra após a sobreposição de cada placa. Os valores da espalhabilidade em função dos pesos adicionados, calculando-se a média.

Foram utilizadas duas placas de vidro com, 10 x 18cm e 0,5cm de espessura, sendo uma delas disposta sobre papel milimetrado. Foi inserido cerca de 0,3g da amostra. Sobre a placa, foram adicionados quatro pesos, de 250, 500, 750 e 1000g, a cada três minutos, na placa superior, promovendo o espalhamento do produto, que pode ser medido como extensibilidade, em centímetros.

### ANÁLISE DA VISCOSIDADE

Para avaliação da viscosidade empregou-se o viscosímetro rotacional (BROOKFIELD modelo DV-III), no qual a amostra é medida por velocidade de rotação de eixos metálicos (*Spindles*) imersos na amostra (FERREIRA, 2000). O teste foi realizado no Centro de Desenvolvimento e Ensaios Farmacêuticos da Universidade Federal do Ceará.

Uma quantidade de aproximadamente 15 g de amostra, a temperatura ambien-

te (25°C), foi colocada no aparelho para leitura da viscosidade. Utilizou-se como ferramenta para o viscosímetro o aparato *Spindle LV4*, sendo este inserido na amostra contida em recipiente adequado e feita a leitura em varias rotações. O resultado obtido foi transformado em valores numéricos de centiPoise (cP) através do fator de correção dado pelo equipamento.

## DENSIDADE

Para a determinação da densidade específica foi realizada o método utilizando picnômetro, previamente pesado vazio, para determinação da  $m_{pv}$ . A amostra foi inserida no picnômetro e novamente pesado para a determinação da  $m_{pa}$ . A diferença entre a massa do picnômetro com a amostra e do picnômetro vazio tem-se a massa da amostra. A relação entre a amostra e a massa da água, representa a densidade específica da amostra. Conforme a equação 2:

$$d = m_{pa} amostra / m_{pa} \text{ água}(2)$$

## AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA

A qualidade microbiológica foi avaliada por meio da contagem em placa de microrganismos viáveis totais (bactérias, fungos e leveduras) e pesquisa de patógenos específicos (*Pseudomonasaeruginosa* e *Staphylococcus aureus*), conforme preconizado na Farmacopéia Brasileira, 5ª edição.

Para realização dos testes, todo o material e meio de cultura utilizados foram previamente esterilizados em autoclave (PHOENIX, modelo AV/AVP-75) a 121 °C, durante 15 minutos. Para a contagem de bactérias utilizou-se como meio o ágar caseína-soja (TSA-TrypticSoy Agar), para fungos, utilizou-se o meio ágar Sabouraud-dextrose.

As placas com ágar caseína-soja foram incubadas em estufa à temperatura de 35°C ± 2°C durante 4 dias, enquanto as placas com Sabouraud-dextrose foram incubadas em estufa a 25°C ± 20°C durante 6 dias. Após o período de incubação, foram rea-

lizadas as contagens de colônias nas placas onde ocorreu o crescimento, e o resultado foi expresso em UFC/mL.

Para a pesquisa de patógenos específicos, 10 g da amostra foi transferida diretamente para tubo contendo 90 mL do caldo soja caseína enriquecido o qual foi incubado a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 18 - 24 hs. Após o período de incubação, alíquotas do meio enriquecido foram transferidas, por estrias em superfície, para os meios de cultura seletivos. Os meios utilizados foram: Cetrimide (*P. aeruginosa*) e Ágar baird-parker (*S. aureus*). As placas foram incubadas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante 48 horas. Decorrido o tempo, foi efetuada a verificação de presença ou ausência de colônias. Em caso positivo, seriam realizados os testes de identificação para as cepas patogênicas: Coloração de Gram, Oxidase, Catalase, Lactase, etc.

#### ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação estatística dos dados foi realizada inicialmente pela análise descritiva das variáveis calculando-se a média, desvio padrão seguida pela de análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Turkey, sendo utilizado o programa estatístico BioEstat 5.3.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a preparação, a formulação apresentou aspecto brilhoso e com leve coloração marrom devido à incorporação da *Curatella americana*. Sua consistência ficou adequada para uma formulação de gel cremoso, apresentando característica não oleosa e praticamente inodora. A formulação base (controle) apresentou as mesmas características, desprovida de coloração.

#### TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA

##### **Aparência, cor e odor**

O gel cremoso contendo o extrato mantido nas três condições de temperatura

apresentou uma leve alteração na cor, adquirindo tonalidade levemente turva após 30 dias, porém essa alteração somente foi observada para as amostras expostas a temperatura ambiente e estufa, o que demonstra que a temperatura é a causa dessa instabilidade. Sua aparência foi ainda mais evidente após 90 dias, o que confirma esta hipótese.

Algumas alterações como coloração e odor são bastante característicos para os produtos fitoterápicos e devem ser cuidadosamente avaliados no estudo de estabilidade (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005). O escurecimento acentuado deve-se provavelmente a ocorrência de oxidações provenientes da permeação de oxigênio (AULTON, 2005).

Para aprovação do produto considera-se o seguinte critério para as características organolépticas. Cor e odor devem permanecer estáveis por, no mínimo, 15 dias à luz solar. Pequenas alterações são aceitáveis em temperaturas elevadas, para avaliação da aparência o produto deve manter-se íntegro durante todo o teste mantendo seu aspecto inicial em todas as condições, exceto em temperaturas elevadas, freezer ou ciclos em que pequenas alterações são aceitáveis (BRASIL, 2004).

Não se observou alterações significativas na formulação do gel cremoso base durante todo o estudo como pode-se observar na Ilustração 3. O gel cremoso contendo o extrato observou-se alterações na coloração após 30 dias de experimento nas amostras armazenadas em ambiente e estufa. Na Ilustração 2 podem-se observar os resultados da avaliação das características organolépticas das amostras.

**Ilustração 2-** Avaliação da aparência, cor e odor do gel cremoso base e do gel cremoso com extrato de *C. americana* submetidos ao estudo de estabilidade acelerada.

Amostra	Condição	Tempo (dias)	Aparência	Cor	Odor	
Gel com Extrato Geladeira	Temperatura Ambiente	1	I	I	I	
		30	II	I	I	
		90	II	II	I	
		1	I	I	I	
		30	I	I	I	
		90	I	I	I	
	Estufa	Geladeira	1	I	I	I
			30	III	II	I
			90	III	II	I
			1	I	I	I
			30	I	I	I
			90	I	I	I
Gel base	Temperatura Ambiente	1	I	I	I	
		30	I	I	I	
		90	I	I	I	
	Estufa	Geladeira	1	I	I	I
			30	II	I	I
			90	II	I	I

Fonte: próprio autor. Aparência: (I) normal, sem alteração; (II) levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo e (III) separado, precipitado ou turvo. Cor e odor: (I) normal, sem alteração; (II) levemente modificada; (III) modificada; (VI) intensamente modificada.

Segundo Singh e colaboradores (2008), variações de cor e odor em geral são consideradas significativas para formulações fitoterápicas, uma vez que a temperatura elevada pode interferir nas características organolépticas das formulações semi-sólidas, havendo necessidade de orientação ao paciente quanto à temperatura e o local de acondicionamento adequando, conforme o tipo de formulação.

**Ilustração 3** – Amostra do gel cremoso contendo *Curatella americana* mantidas em geladeira (A), ambiente (B) e estufa (C) no intervalo de 30 (acima) e 90 dias (abaixo) de estudo de estabilidade.



Fonte: Próprio autor.

## pH

O pH é um parâmetro muito significativo, pois uma alteração significativa de seu valor pode sugerir modificações químicas dos componentes presentes na formulação.

Alterações no valor de pH podem ocorrer em função de impurezas, hidrólise e decomposição. Essas instabilidades podem ocorrer também devido ao tempo de estocagem e/ou condições inadequadas de transporte e armazenamento (ALLEN, 2000; FERREIRA, 2000).

Nas análises de pH das amostras de gel cremoso base, não se observou variação significativa dos resultados, no entanto nas amostras contendo o extrato de *C. americana* pode-se notar variação tendendo para a acidez, nota-se ainda que logo no primeiro dia todas as amostras diminuíram o pH, sendo observada essa diminuição principalmente na amostra armazenada em estufa após 90 dias de estudo.

Essa diminuição do pH pode ser explicada pelas características inerentes do extrato utilizado, cujo pH medido foi de 6,03, o que se refletiu em todas as formulações, como demonstrado na Ilustração 4. Os metabólitos secundários flavonóides, polifenóis e taninos condensados, poderiam ser os responsáveis por esta característica ácida.

**Ilustração 4** - Variação de pH das amostras mantidas a temperatura ambiente (TA), geladeira (GE) e estufa (ES), teste realizando em temperatura ambiente.

Formulação	Tempo (dias)	pH		
		TA	GE	ES
Gel base	01	6,93	6,89	6,97
	30	7,52	7,29	7,32
	90	7,18	6,94	6,64
Gel com extrato	01	5,95	5,99	5,92
	30	6,22	6,22	5,79
	90	5,75	5,81	5,11

Fonte: Próprio autor.

Ainda assim, pode se ressaltar que o pH do gel cremoso contendo extrato de *C. americana* submetido ao estudo de estabilidade acelerada, mantidas armazenadas em ambiente, geladeira e estufa apresentaram valor de pH próximo a 6,0, sendo compatível com o pH fisiológico da pele (5,0 - 7,0).

### Ciclo gelo-degelo

Após o ciclo de gelo-degelo o gel cremoso (com e sem o extrato) não apresentou qualquer tipo de separação ou alteração perceptível no decorrer do período estudado, indicando boa resistência as alterações bruscas de temperatura, tal como seria desejável.

### Estufa e centrífuga combinados

Inicialmente, a análise visual das formulações mostrou que todas se apresentavam estáveis. O teste de centrifugação é considerado pela ANVISA como teste de triagem e não deve necessariamente indicar a estabilidade física real das preparações, porém é eficiente para pré selecionar as formulações que devem ser submetidas aos testes de estabilidade acelerada e de prateleira (BRASIL, 2004).

Após o teste, nenhuma formulação apresentou qualquer sinal de instabilidade física, tais como a cremagem e/ou separação de fases, conforme se verifica na Ilustração 6, sendo classificada em grau I, sem separação de fases (Ilustração 5).

**Ilustração 5** - Avaliação dos parâmetros observados nos testes de estufa e centrífuga até 7 dias e ciclo gelo-degelo finalizado após 21 dias.

Amostras	24 horas	7 dias	21 dias
Gel base	1	I	I
	2	I	I
	3	I	I
	4		I
	5		I
	6		I
Gel base com extrato	7	I	I
	8	I	I
	9	I	I
	10		I
	11		I
	12		I

Fonte: próprio autor. (I) normal, sem alteração; (II) levemente modificada; (III) modificada; (VI) intensamente modificada.

### Determinação da espalhabilidade

O teste baseia-se na resistência do gel cremoso ao movimento forçado. Inicialmente o gel cremoso contendo o extrato foi o que apresentou menor resistência a espalhabilidade nas três condições de armazenamento, isso se deve a incorporação do extrato vegetal que aportou maior fluidez ao preparado, o que poderia estar relacionado à modificação do equilíbrio hidrofílico-lipídico na formulação. Já o gel cremoso base não apresentou variações significativas de espalhabilidade mantendo a resistência ao espalhamento praticamente inalterada no decorrer do estudo nas três condições de armazenamento.

No teste de espalhabilidade houve diferença em alguns pontos aleatórios, não sendo lineares. Foi observada variação  $p < 0.05$  das amostras de gel cremoso base e do gel cremoso com extrato após 24 horas mantidas em estufa e submetidas ao peso de 250g. Foi observado também que após 30 dias houve a mesma variação nas amostras mantidas em geladeira submetidas ao peso de 500g.

Nas amostras submetidas aos pesos de 750 e 1000g após 30 dias a diferença foi  $p < 0.1$ . Com tudo, a maior diferença ocorreu nas amostras contendo o extrato devido a incorporação da mesma que gerou maior fluidez e com a ação dos pesos apresentaram maior espalhabilidade em relação ao gel cremoso base. Essas variações não influenciaram nas características físicas das amostras, pois a diferença estatística entre elas foi irrelevante. Nas outras amostras não houve diferença estatística. Na tabela abaixo estão os resultados da espalhabilidade.

**Ilustração 6** - Espalhabilidade máxima obtida para o gel cremoso base e o gel cremoso com extrato de *Curatella americana* mantido em temperatura ambiente (TA), geladeira (GE) e estufa (ES).

Amostra	Condição	Espalhabilidade - Ei (mm <sup>2</sup> )		
		1 dia	30 dias	90 dias
Gel base	TA	4239	4318	4004
	GE	4632	4161	4318
	ES	4553	4475	4461
Gel com extrato	TA	4710	5181	4632
	GE	4867	5024	5024
	ES	5573	4946	4761

Fonte: próprio autor.

## ANÁLISE DA VISCOSIDADE

Thompson (2006) descreve que nas preparações de uso tópico, é essencial a manutenção de uma viscosidade apropriada, para obter a suavidade e consistência desejável para que o produto seja facilmente aplicável, permanecendo em contato com a área afetada e ainda produzindo sensação agradável ao usuário.

Segundo o Guia de Estabilidade de produtos Cosméticos, 2004, os limites de aceitação da viscosidade devem ser definidos pelo formulador considerando-se a percepção visual e sensorial decorridas de alterações. Deve-se levar em conta a possibilidade do consumidor também reconhecê-las.

As amostras apresentaram aspecto ideal de gel cremoso, sendo agradáveis ao toque e imperceptíveis durante todo o estudo.

No teste realizado com o gel cremoso contendo o extrato observa-se a viscosidade aumentada, apresentando viscosidade de 53551 em 0,3 rpm, isso devido a quantidade de sólidos integrada na amostra e pela estabilidade da emulsão que apresenta

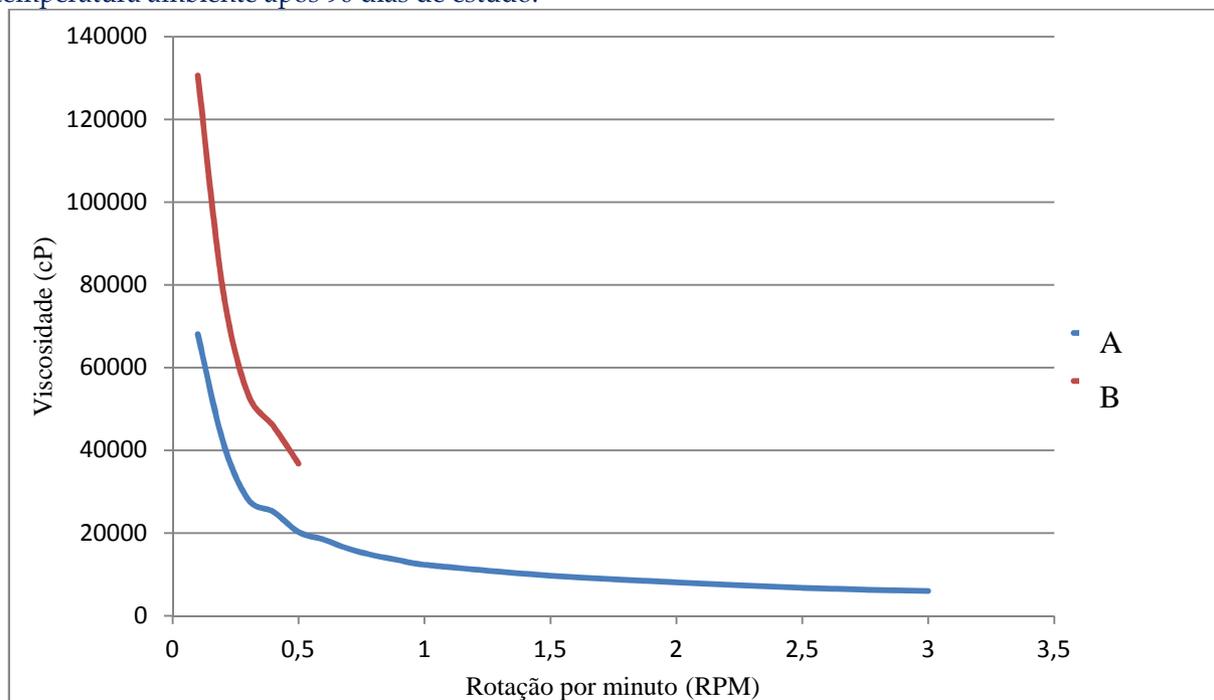
característica pseudoplástica com limite menor de resistência da rotação do spindle do aparelho.

Segundo Schramm (2006), isto ocorre, pois vários líquidos que aparentam ser homogêneos na verdade são compostos por diversas partículas que quando em repouso, mantêm uma ordem interna irregular que lhes fornece a característica de uma alta viscosidade. Com o aumento da tensão de cisalhamento, essas partículas podem se orientar, se estirar ou se deformar na direção do fluxo ou ainda, induzir a quebra de agregados o que faz com que esse líquido escoe mais facilmente.

Já o gel cremoso sem o extrato mesmo apresentando comportamento pseudo-plástico, demonstrou ser menos viscosa inicialmente com viscosidade em 0,3 rpm de 28119 porem, observou-se aumento da resistência no teste de rotação. Para esses fluidos, o comportamento de fluxo varia com a taxa de deformação e a viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de deformação.

Para Schramm (2006), o comportamento de fluxo pseudoplástico não é uniforme ao longo das faixas de cisalhamentos. Com uma baixa taxa de deformação, o movimento Browniano das moléculas mantém as partículas ou moléculas dispersas aleatoriamente apresentando uma viscosidade inicial independente da faixa de cisalhamento. Quando a taxa de deformação aumenta a ponto de exceder o efeito aleatório do movimento browniano, a viscosidade cai significativamente até que, para altas taxas de cisalhamento, a viscosidade se aproxima a um valor constante. Na Ilustração 8 pode-se observar as variações da viscosidade das amostras.

**Ilustração 7-** Viscosidade da amostra de gel cremoso base (A) e do gel cremoso contendo o extrato (B) mantido em temperatura ambiente após 90 dias de estudo.



Fonte: próprio autor

## DENSIDADE

No teste realizado com as amostras de gel cremoso base e do gel cremoso contendo o extrato mantido a temperatura ambiente realizado após 90 dias de estudo obteve-se o resultado igual para ambas às amostras, sendo a densidade igual a 0,997g/mL, o que se aproxima a viscosidade da água, em virtude de ser notoriamente este o maior insumo utilizado na preparação das formulações.

## AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA

Para produtos não estéreis de uso tópico se admite a presença limitada de carga microbiana, sendo recomendado que os limites sejam de, no máximo,  $10^2$  UFC/mL para bactérias, e  $10^1$  UFC/mL, para fungos e leveduras e a ausência de bactérias patogênicas. Como demonstrado na Ilustração 9, os níveis de contaminantes presentes nas formulações ficaram abaixo dos preconizados, permanecendo, portanto, estável neste ponto de vista no decorrer do período estudado.

Os resultados de estabilidade microbiológica demonstraram que o gel cremoso base e o gel cremoso com extrato, mantidos em geladeira e a temperatura ambiente, armazenados durante 90 dias, mantiveram-se estáveis quanto aos parâmetros microbianos avaliados, indicando que não houve contaminação acima dos limites estabelecidos, indicando que o sistema conservante atuou de forma eficaz na conservação da formulação.

**Ilustração 8**–Resultado da avaliação da qualidade microbiológica da amostra do gel cremoso base e do gel cremoso base com o extrato de *Curatella americana* armazenadas em temperatura ambiente e geladeira após 90 dias.

Amostra	Condição	Contagem total de bactérias aeróbias UFC/g	Contagem total de Fungos/ leveduras UFC/g	Pesquisa de patógenos <i>Staphylococcus aureus</i> / <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Gel base	TA	<100	<10	Ausência/ Ausência
	GE	<100	<10	Ausência/ Ausência
Gel com extrato	TA	<100	<10	Ausência/ Ausência
	GE	<100	<10	Ausência/ Ausência

Fonte: Próprio autor. TA: temperatura ambiente; GE; geladeira.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As formulações testadas tiveram um bom desempenho frente aos testes feitos, apresentando estabilidade inicial e também frente aos desafios propostos, tais como diferentes condições de armazenamento e uso de estufa e centrífuga. Não foram observadas alterações significativas, sejam elas físicas/físico-químicas e/ou microbiológicas. A incorporação do extrato ao gel cremoso base foi satisfatória, mantendo quase inalteradas as características organolépticas como aparência, cor e odor das amostras inicialmente a pós 90 dias mantidas em geladeira e temperatura ambiente.

Os resultados de estabilidade microbiológica foram satisfatórios, não ultrapassando os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, demonstrando a eficácia do sistema conservante em preservar a formulação com e sem o extrato.

Desta forma, a formulação de gel cremoso contendo o extrato de *C. americana* apresentou qualidade satisfatória e estabilidade em relação ao tempo, tornando-a apropriada para ser utilizada em testes *in vivo* de modo a respaldar a atividade farmacológica desta espécie na cicatrização de feridas.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J. L. N. Avaliação da qualidade dos medicamentos fitoterápicos no Brasil. 2014.
- ALMEIDA, M. Z. Fitoterapia no SUS no Estado da Bahia: contribuição paravalorização do conhecimento e das práticas tradicionais na rede básica de saúde. **Revista de Fitoterapia**. 2011.
- ALMEIDA, R. B.; SCHEFFE, T. P. Estudo sobre a utilização de recursos vegetais com potencial terapêutico. Santa Catarina. **Revista de Saúde Pública**. 2012.
- ALLEN, L.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 6ª ed. 2000.
- AMOROZO, M. C. M. **Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leverger, MT, Brasil**. São Paulo, 2002.
- AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª ed. 2005.
- BALBANI, A. P. S.; STELZER, L. B.; MONTOVANI, J. C. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. São Paulo, 2006.
- BARBOSA, C. S. Avaliação alelopática e caracterização fitoquímica do extrato em diclorometano de folhas de *Curatella americana* L. (LIXEIRA), 2011.
- BARRY, B. Liberação transdérmica de fármacos. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª ed. 2005.
- BONTORIM, G. Estudo de estabilidade de emulsão cosmética utilizando reologia e técnicas convencionais de análises. Universidade Federal do Paraná, 2009.
- BRASIL. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1. ed. Brasília, 2004.
- BRASIL, Resolução - RE nº 1, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade, **Diário Oficial União**, ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária, disponível em: <<http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18109&word>>. Acesso em: 12/12/2013.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 5ª ed. Brasília, 2010.
- BRASIL. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Ministério da Saúde. 2012.

- CALIXTO, J. B. Estudo farmacológico pré-clínico de plantas medicinais. In: CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**, 2001.
- FERREIRA, A. O. **Guia prático de farmácia magistral: boas práticas de manipulação**, 2000.
- FLORENCE, AT.; ATTWOOD, D. **Princípios físico químicos em farmácia**, 2003.
- GRIMM, W. Stability testing in industry. In: GRIMM, W. *Stability testing of drug products*, 1987.
- JAIN, S.; TIWARY, A. K. Topical products. **Pharmaceutical Product Development**, 2005.
- KNORST, M. T. Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato *Deachyrocline Satureioides* (Lom), 1991.
- KOPLEMAN, S. H.; AUGSBURGER, L. L. Selected Physical and Chemical Properties of Commercial *Hypericum perforatum* Extracts Relevant for Formulated Product Quality and Performance. **AAPS PharmSci**, 2001.
- LACHMAN, L.; DELUCA, P.; AKERS, M. J. Testes de estabilidade e fundamentos de cinética química. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN H. A.; KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**, 2001.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. 2008.
- LUZ, F. J. F. *Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil*. Horticultura Brasileira, 2001.
- MACEDO, E. V.; GEMAL, A. L. A produção de fitomedicamentos e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmácia**, 2009.
- MARQUES, L.C.; PETROVICK, P.R. Normatização da produção e comercialização de fitoterápicos. **Farmacognosia: da planta a medicamento**. 2007.
- MIOTO, R. País deixa de gerar US\$ 5 bi por ano com fitoterápicos. Folha UOL. Disponível na internet no endereço: <<http://www.blackwell-synergy.com/links>>. Acesso em: 10/09/2014.
- NEWMAN, D. G.; CRAGG, G. M. Natural products sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, 2007.
- OLIVEIRA, M. J.; RIOS, A. B. M.; VALE, C. R.; BAILÃO, E. F. L. C. Avaliação do efeito genotóxico do extrato aquoso de *curatela americana* pelo teste smart/asa em *drosophilamelanogaster*, 2011.
- POSSE, J. C. *Plantas medicinais utilizadas pelos usuários do SUS nos bairros de Pa-*

- quetá e Santa Teresa: uma abordagem etnobotânica. 2007.
- PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. Técnica farmacêutica e farmácia galênica. 3° ed. 1990.
- RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. J. Ethnopharmacol. 2001
- SCHRAMM, G. Reologia e reometria. 2° ed. 2006.
- SILVA, J. M. C. 100 árvores do Cerrado. **Guia de campo**. Rede de Sementes do Cerrado. 2005.
- SINGH, M. V.; DIAS, L.; BALDINI, N. F. B.; SILVEIRA, D.; ZAGO, R. Desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da estabilidade de gel com extrato aquoso de camomila para uso bucal. 2008.
- SOUZA, M. Z. S.; ANDRADE, L. R. S.; FERNANDES, M. S. M. Levantamento sobre plantas medicinais comercializadas na feira livre da cidade de Esperança-PB. **Revista de Biologia e Farmácia**, 2011.
- THOMPSON, J. E. A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos, 2006.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?, 2005.
- VELASCO-DE-PAULA, M.V.R; RIBEIRO, M.E. **Guia didático de fórmulas cosméticas e cosmecêuticas**, 2001.
- VILLAS BÔAS, G. K.; GADELHA, C. A. G. Oportunidades na indústria de medicamentos e desenvolvimento local. **Caderno de Saúde Pública**, 2007.
- VOSS, E. G. Na integrated system of classification of flow-reng plants, 1983.
- YAMAMOTO, H. C.; PINTO, A. T. J.; MEURER, M. V.; CARVALHO, M. A.; REZENDE, P. Controle de Qualidade Microbiológico de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e
- Fitoterápicos Produzidos na Zona da Mata, MG. **Anais do 2° Congresso Brasileiro de Extensão Universitária**. 2004.
- ZUANAZZI, J. A.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMOES, et al (org). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5° ed. 2003.



# AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DE COLOIDES CARREGADOS COM ÓLEO DE COPAÍBA COMO PROTETORES DA SUPERFÍCIE DENTÁRIA

Jennifer Thayanne Cavalcante de Araújo<sup>1</sup>

Darllen Suzanny Barbosa<sup>2</sup>

Francisco Fábio Oliveira de Sousa<sup>3</sup>

RESUMO: Mundialmente as doenças da cavidade oral são os problemas de saúde pública de maior prevalência, sendo primordial adotar medidas preventivas de combate aos processos nocivos das estruturas dentais, em especial a cárie, a partir da qual podem surgir diversos outros agravos. O passo mais importante para que se produza a cárie, é a adesão inicial de bactérias a superfície dentária, a qual é mediada pela interação entre proteínas do microrganismo e componentes da saliva que são adsorvidos pelo esmalte dentário. A redução de bactérias na placa dental é, portanto a principal estratégia de prevenção. É atribuído ao óleo da copaíba (*Copaifera sp*) atividade bactericida sobre várias espécies de bactérias Gram-positivas, dentre as quais a *Streptococcus mutans*, espécie de maior representatividade na progressão cariogênica. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver e caracterizar sistemas coloidais a base de Zeina carregados com óleo de copaíba para proteção químico-mecânica do esmalte dentário. O sistema desenvolvido teve por objetivo adsorver a superfície do esmalte dentário e prover a liberação controlada do óleo. As formulações preparadas foram caracterizadas através do tamanho/distribuição de tamanho e potencial zeta. Após a otimização do processo de obtenção dos sistemas coloidais, sobretudo da seleção da melhor combinação de solventes e concentração da proteína, foram incorporadas quantidades variadas de óleo de copaíba. A partir dos resultados iniciais, as formulações ZOC0,5 e ZOC1,0 contendo ambas 0,007% (p/v) de Zeina em etanol a 12,5%, e 0,5% e 1% de óleo de copaíba, respectivamente, foram as que apresentaram melhores características técnicas. Foi observada a manutenção da integridade dos sistemas coloidais nas duas formulações ZOC0,5 e ZOC1,0 o decorrer do estudo. A análise gravimétrica por volatilização mostrou que a proteína retardou a volatilização do óleo, o que por si aumentaria o tempo de permanência residual do mesmo e a conseqüentemente a sua atividade quando da sua possível utilização. A partir destes resultados, pode-se concluir que a formulação contendo 1% de óleo de copaíba apresentou o melhor desempenho e a aderência da formulação ao esmalte dentário foi considerada eficaz, porém são necessários mais estudos para respaldar o seu uso clínico.

Palavras-chave: Coloides. Nanopartículas. Cárie. Sistema de liberação de fármacos. Óleo de Copaíba. *Copaifera*

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2014-2015.

<sup>2</sup> Foi bolsista de desenvolvimento tecnológico e inovação PIBIT/CNPq/UNIFAP, vigência 2013-2014.

<sup>3</sup> Orientador de iniciação científica. Professor do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

## 1 INTRODUÇÃO

A promoção da saúde tem sido fundamental, inclusive no que tange a saúde bucal, tendo em vista que a mesma pode afetar diretamente o bem-estar do indivíduo, através de diversas vertentes (BARROS, 2010).

As doenças da cavidade oral apresentam-se como os mais prevalentes problemas de saúde pública do mundo, sendo a cárie dentária a mais comum a partir da infância (BRASIL, 2004; MENEZES *et al.*, 2010). Sua etiologia é dependente de vários fatores, apresentando correlação com o desequilíbrio entre a estrutura do dente e o microambiente oral, onde a microbiota, dieta e hospedeiro são responsáveis pelo início e progressão da doença (SHAW; GLENWRIGHT, 1989; MENEZES *et al.*, 2010).

A redução de bactérias na placa dental é, portanto a principal estratégia de prevenção e também recurso terapêutico (TEN CATE, 2009; PIERI *et al.*, 2012a). Neste sentido, pode ser incluído como estratégia terapêutica o uso de substâncias com atividade antimicrobiana através da aplicação direta nos dentes e nas demais estruturas orais (HENNET, 2002; PIERI *et al.*, 2010). Os antimicrobianos sistêmicos não apresentam um grande papel no seu tratamento de rotina, sendo o tratamento *in situ* de grande utilidade (COVENTRY *et al.*, 2000).

O conteúdo inorgânico do esmalte consiste de fosfato de cálcio cristalino, mais conhecido como hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) (LUMMERTZ; MAY, 2012). Existe troca iônica entre o esmalte e o ambiente da cavidade oral. Os íons hidroxila podem ser substituídos por fluoretos na rede cristalina, levando a uma estrutura mais estável e resistente contra o ataque ácido (KERESKI, 2012). Neste sentido, estratégias que possam impedir o contato da estrutura do esmalte com os componentes metabólicos bacterianos poderiam ser de grande valia, sendo as estruturas nanoparticuladas bastante adequadas para esta finalidade (BENELLI, 2016; MA *et al.*, 2016).

Apesar das inúmeras possibilidades de uso de plantas medicinais em Odontologia, os avanços ainda não são tão evidentes, quer seja para tratar doenças da cavidade oral ou para tratar doenças sistêmicas que levem a alterações na saúde bucal

(SANTOS et al., 2009; OLIVEIRA, 2010).

Uma das espécies em destaque na fauna brasileira, bastante utilizada na medicina tradicional amazônica, é a Copaíba (*Copaifera sp*), cujo óleo há décadas tem sido objeto de estudo (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002). Entre as principais atividades descritas para este óleo medicinal encontram-se as suas propriedades antimicrobiana, antineoplásica, e anti-inflamatória (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009; PIERI et al., 2012b). Santos et al. (2008) demonstrou em seu estudo a atividade bactericida do óleo de copaíba sobre várias espécies de bactérias Gram-positivas. Outros autores comprovaram a atividade bacteriostática deste óleo frente a *S. mutans* em baixas concentrações a partir de 0,78 µL/mL (PIERI et al., 2012a; VASCONCELOS et al., 2008).

Diante do exposto, a obtenção de sistemas de liberação carregados com óleo de copaíba (OC) para a aplicação *in situ* sobre a superfície dentária, com característica de liberação controlada, poderia ser uma ferramenta bastante útil no combate à formação de biofilme na superfície dentária para a prevenção e tratamento da cárie.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAIS

A proteína do milho Zeina foi comprovada da empresa Sigma-Aldrich®. O óleo de copaíba (OC) (*Copaifera sp*) foi obtido a partir de coleta *in natura*, em árvore devidamente catalogada. Todos os outros reagentes, de pureza analítica, foram utilizados tal como recebidos.

### 2.2 PREPARO E AVALIAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

Estudos prévios nos permitiram chegar à concentração de Zein a 0,007% (ZControle) para preparação dos sistemas coloidais.

A esta composição, foram incorporadas diferentes concentrações do OC: 0,5%, 1%, 2% e 4%, de modo a averiguar o carregamento e a funcionalidade dos sistemas

obtidos. As formulações foram denominadas ZOC0.5, ZOC1.0, ZOC2.0, ZOC4.0.

As mesmas foram agitadas e observadas visualmente quanto à obtenção de translucidez, confirmando a obtenção e manutenção dos coloides. Todas as formulações foram caracterizadas em termos de tamanho de partícula e potencial zeta ( $\delta$ ) (Zetasizer® Nano-ZS, Malvern Instruments).

## 2.3 ANÁLISE GRAVIMÉTRICA POR VOLATILIZAÇÃO

De modo a se verificar a capacidade da proteína em reter o OC em condições próximas as fisiológicas, empregou-se um ensaio de gravimetria por volatilização, no qual a partir da variação em peso relativo da formulação teste com respeito aos controles, pode-se inferir na velocidade de volatilização em uma determinada condição.

As composições utilizadas foram as seguintes: **Amostra 1:** Solução hidroetanólica a 12,5%; **Amostra 2:** OC (em sua melhor concentração) em solução hidroetanólica a 12,5%; **Amostra 3:** Zein 0,007%, OC (melhor concentração obtida) em solução hidroetanólica a 12,5%.

As composições foram inicialmente pesadas em uma balança analítica para verificar a massa inicial e submersas em banho-maria a 37 °C, sendo pesadas novamente em tempos pré-determinados: 0,1, 2, 4, 6, 24, 27, 30, 40, 44, 50, 54, 65, 73, 83, 91h, a partir dos quais se observaram os diferentes perfis de volatilização das composições. (SMITH; GNODI, 1959; TINANO, 2009).

## 2.4 ESTUDOS DE ADSORÇÃO EM ESMALTE DENTÁRIO

Blocos de esmalte bovino (4x3x3 mm), coletados, limpos e cortados com lâmina diamantada, foram submersos na dispersão coloidal de melhor desempenho e mantidos a 37°C. Antes da imersão dos blocos na formulação, foi realizada a leitura da superfície do esmalte bruto para comparar com a leitura após a imersão, avaliando a diferença da superfície comprovando a adsorção do material. As análises foram realizadas em microscopia de força atômica (AFM) Nanosurf, modelo EasySoan 2 FlexAFM

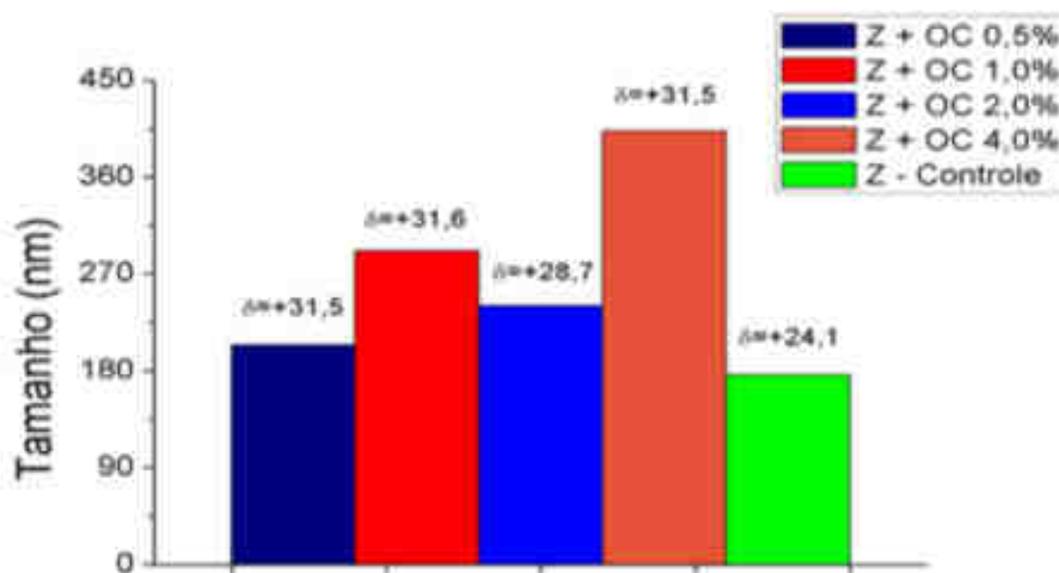
## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes a cada ensaio foram expressos em forma de média aritmética  $\pm$  desvio padrão. Foram submetidos ao teste de normalidade e análise de variância (ANOVA), sendo a comparação das diferenças entre as médias aos pares realizada pelo teste de Dunnet e Bonferroni (com nível de significância de 5%). As análises foram realizadas através do software BioEstat® 5.3.

## 3 RESULTADOS

Quanto a determinação do tamanho de partícula, houve uma tendência de aumento proporcional à quantidade de óleo incorporada, o que pode indicar uma não saturação dos sítios de ligação da proteína. Ainda assim, todos os coloides mantiveram o potencial  $\delta$  positivo. Dentre, as formulações preparadas (ZControle; ZOC0.5, ZOC1.0, ZOC2.0 e ZOC4.0), as composições contendo 0,5 e 1% de OC foram selecionadas, devido a maior uniformidade em termos de tamanho de partícula e potencial zeta. (Figura 1).

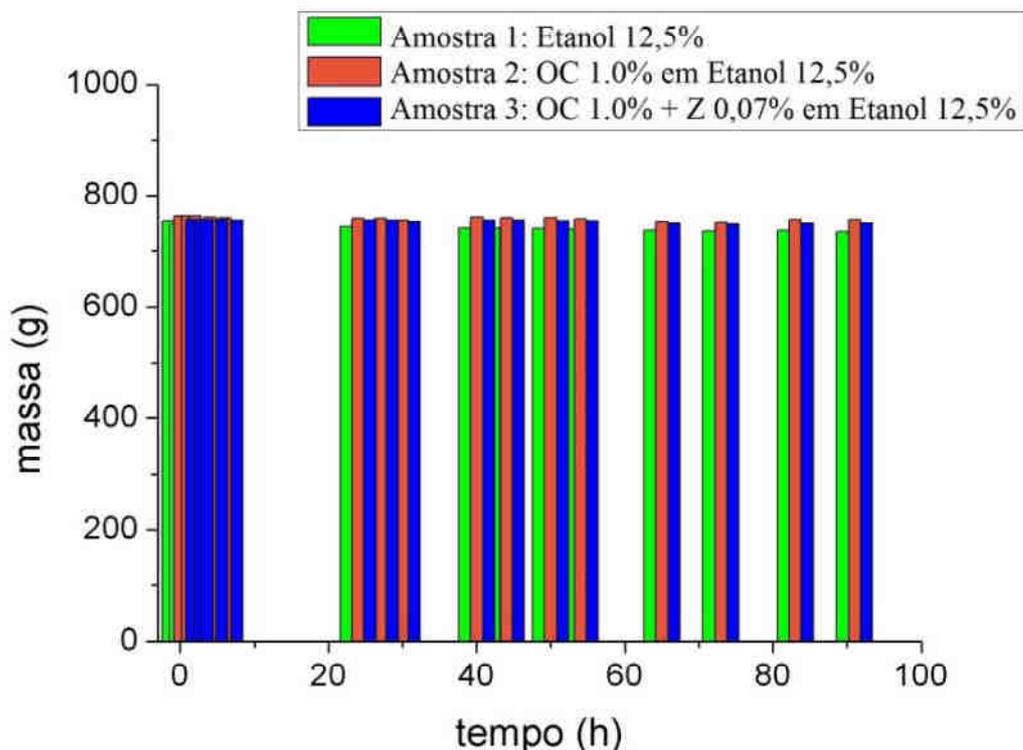
**Figura 1.** Tamanho e potencial  $\delta$  das nanopartícula de zein carregadas com o óleo de copaíba.



O estudo de volumetria de volatilização permitiu avaliar a velocidade de perda

em massa nas formulações. Ao se observar a Figura 2, percebe-se que cada amostra manteve praticamente inalterada a sua massa no decorrer do tempo, havendo uma reduzida volatilização dos componentes, o que pode ser explicado pela baixa temperatura utilizada ( $37^{\circ}\text{C}$ ), próxima a fisiológica. Os resultados foram submetidos à análise de variância, seguida do teste de Dunnett, onde se avaliou a diferença entre a primeira e a última pesagem das amostras. Nenhuma das comparações foi significativa ( $p>0,05$ ). Por outro lado ao analisar as formulações também em pares, mas ao longo do tempo de estudo e utilizando a análise de variância, seguida pelo teste de Bonferroni, todas apresentaram uma diferença significativa nas suas massas ( $p<0,01$ ). Ao se fazer uma análise individual de cada formulação, foi evidenciada uma diferença na perda percentual em massa no decorrer dos dias: amostra 1 (- 2,55%), amostra 2 (- 0,93%) e amostra 3 (- 0,70%).

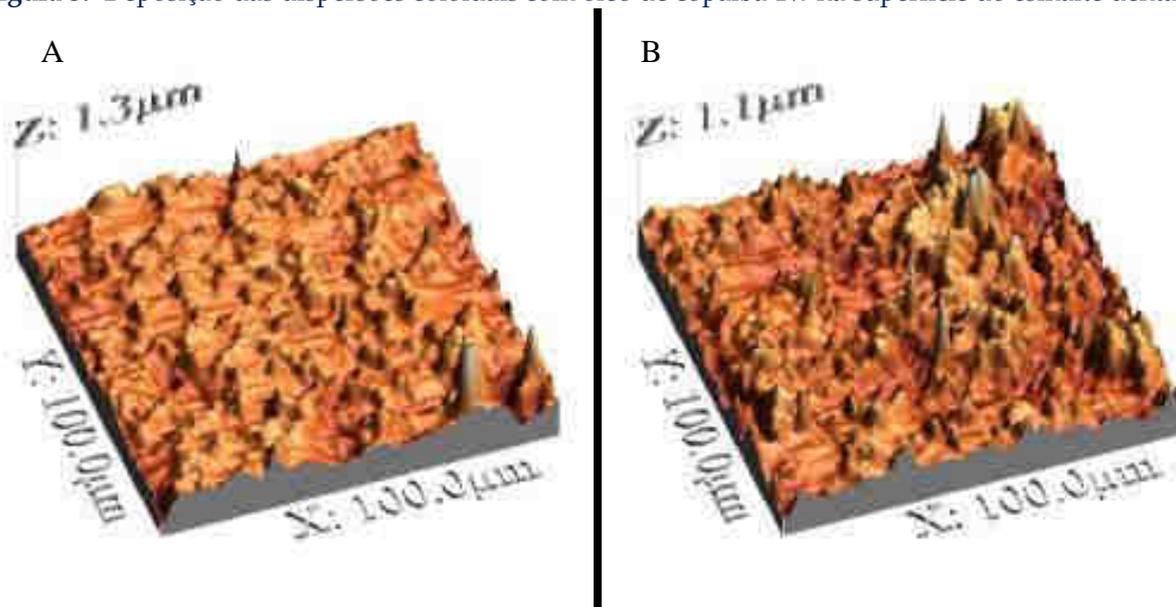
**Figura 2.** Perfil de volatilização do coloide de zein carregado com 1% de óleo de copaíba



Com relação aos estudos de adsorção realizados, foi possível verificar a deposição das dispersões coloidais (ZOC1,0%) à superfície do esmalte dentário, verificando que houve um aumento da rugosidade, demonstrado pela presença variável de picos

após o contato com o material teste (Figura 3).

**Figura 3.** Deposição das dispersões coloidais com óleo de copaíba 1% na superfície do esmalte dentário



A - esmalte bruto; B - esmalte carregado com o coloide.

## 4 DISCUSSÃO

Sousa, *et. al* (2013), analisaram o tamanho de coloides contendo a proteína zein sozinha e carregada com dois fármacos: indometacina e tetraciclina, observando que a incorporação dos fármacos aumentou o tamanho de partícula, devido a retenção dos mesmos pela proteína. O potencial  $\delta$  foi positivo na formulação da proteína sozinha ( $\delta = +17,1$ ), sendo diminuído após a adição dos fármacos ( $\delta = +13,9$  e  $\delta = +9,1$  respectivamente).

Este achado contrasta com a incorporação do OC, o qual notoriamente aumentou o potencial  $\delta$ , possivelmente pela característica lipídica do mesmo, cujas porções carboxílicas dos ácidos graxos podem ter se ligado aos grupamentos amino da cadeia polipeptídica da proteína, gerando um gradiente de cargas positivo nas porções alifáticas dos ácidos graxos. Um valor elevado de  $\delta$  confere maior estabilidade ao sistema coloidal, evitando a agregação dos coloides hidrofóbicos (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Os sistemas se mantiveram estáveis ao menos no decorrer dos primeiros 15 dias, o que respaldaria, por exemplo, também o seu uso na cavidade oral.

O sistema de liberação coloidal tem sido um método de formulação alternativa para drogas problemáticas, tem como principal vantagem a capacidade de aumentar a biodisponibilidade do produto sem comprometer sua funcionalidade e possibilita a incorporação de substâncias hidro e também lipofílicas (PATEL; VELIKOV, 2011; PIMENTEL, et al.,2007).

Os sistemas coloidais utilizando polímeros como agentes de retenção/recobrimento de óleos tem por objetivo reduzir sua volatilização, aumentar sua estabilidade/proteção e controlar liberação do ativo (ALVES, 2012). Os coloides contendo 1% de OC apresentaram uma menor volatilização demonstrando que a formulação contendo a proteína está em associação estrutural com o óleo. No entanto, para confirmar tais achados, faz-se necessário utilizar temperaturas mais elevadas, assim como um tempo maior.

Observou-se que os sistemas nanoestruturados de óleo de copaíba conseguem se aderir na superfície do esmalte dentário, sugerindo que os mesmos possam liberados gradativamente, para realizar a proteção químico-mecânica contra às agressões sofridas por este na cavidade oral.

## **5 CONCLUSÃO**

Diante dos resultados obtidos, foi possível obter e caracterizar os coloides de zein carregados com óleo de copaíba, os quais se mantiveram até certo ponto estáveis, sendo a temperatura ambiente e a geladeira propícias ao seu armazenamento. No estudo de gravimetria por volatilização a amostra contendo a proteína apresentou menor perda em massa no decorrer do estudo, indicando a possível retenção química do óleo de copaíba. Foi observada a adsorção à superfície do esmalte dentário, o que poderia respaldar o desenvolvimento de produtos com finalidade protetiva.

## **REFERÊNCIAS**

ALVES, S. F. Estudo da composição química, de atividades biológicas e microencap-

- sulação do óleo essencial dos frutos de *Pterodon emarginatus* Vogel – Fabaceae (“sucupira”). 2012. Dissertação – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2012.
- BARROS, V.S.S. Principais doenças orais em idosos, consequências e tratamentos. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Atenção Básica em Saúde da Família) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2010.
- BENELLI, G. Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. *Parasitology Research*, v.115, p.23–34, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Atenção Básica. Projeto SB Brasil 2003: condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003: resultados principais. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/projeto\\_sb2004.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/projeto_sb2004.pdf)>. Acesso em: 06 dez. 2013.
- COVENTRY, J.; GRIFFITHS, G.; SCULLY, C.; TONETTI, M. ABC of oral health: periodontal disease. *Brit. Med. J.*, v. 321, n. 7252, p. 36-39, 2000.
- HENNET, P. Effectiveness of a dental gel to reduce plaque in beagle dogs. *J. Vet. Dent.*, v. 19, n.1, p. 11-14, 2002.
- LUMMERTZ, G. A. B; MAY, R. I. Análise cristalográfica do esmalte dental bovino e humano através da difratometria de raios-x. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Odontologia. Porto Alegre, 2012.
- KERESKI, A. S. Prevenção e tratamento de lesões cáries associadas ao tratamento ortodôntico. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Odontologia. Porto Alegre, 2012.
- MA, B. L; YIN, C; ZHANG, B. K; DAI, Y; JIA, Y. Q; YANG, Y; LI, Q; SHI, R; WANG, T. M; WU, J. S; LI, Y. Y; LIN, G; MA, Y. M. Naturally occurring proteinaceous nanoparticles in *Coptidis Rhizoma* extract act as concentration dependent carriers that facilitate berberine absorption. *Scientific Reports*, v. 6, 2016.
- MENEZES, V.A.; CAVALCANTI, G.; MORA, C.; GARCIA, A.F.G.; LEAL, R.B. Pediatric medicines and their relationship to dental caries. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v. 46, n. 1, p. 157-164, 2010.
- OLIVEIRA, M.A.C. Plantas medicinais utilizadas para problemas bucais: estudo etnobotânico em diferentes biomas da Paraíba. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.
- PATEL, A.R.; VELIKOV, K.P. Colloidal delivery systems in foods: A general comparison with oral drug delivery. *LWT - Food Science and Technology*, v. 44, p. 1958-1964,

2011.

- PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.M.; FIORINI, J.E.; MOREIRA, M.A.S.; SCHNEEDORF, J.M. Bacteriostatic Effect of Copaiba Oil (*Copaifera officinalis*) against *Streptococcus mutans*. Braz. Dent. J., v. 23, n. 1, p. 36-38, 2012a.
- PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; FIORINI, J.E.; SCHNEEDORF, J.M. Efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em cães. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 62, n. 3, p. 578-585, 2010.
- PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.M.; MOREIRA, M.A.S. Óleo de copaiba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. Rev. Bras. Plantas Med., v. 11, n. 4, p. 465-472, 2009.
- PIERI, F.A.; SILVA, V.O.; SOUZA, C F.; COSTA, J.C.M.; SANTOS, L.F.; MOREIRA, M.A.S. Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 64, n. 1, p. 241-244, 2012b.
- PIMENTEL, L.F.; JÚNIOR A.T.J.; MOSQUEIRA, V.C.F.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. Rev. Bras. Cienc. Farm., v. 43, n. 4, p.503-514, 2007.
- SANTOS, A.O.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B.P.D.; JUNIOR, V.F.V.; PINTO, A.C.; NAKAMURA, C.V. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 103, n. 3, p. 277-281, 2008.
- SANTOS, E.B.; DANTAS, G.S.; SANTOS, H.B.; DINIZ, M.F.F.M.; SAMPAIO, F.C. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. Rev. Bras. Farmacogn. v.19, n.1B, p. 321-324, 2009.
- SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S; FREITAS, L. DE L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e Estabilidade Físico-química de Sistemas Poliméricos Nanoparticulados Para Administração de Fármacos. Rev. Quim. Nova, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.
- SHAW, L.; GLENWRIGHT, H.D. The role of medications in dental caries formation: need for sugar-free medication for children. Pediatrician, v. 16, n. 3-4, p. 153-155, 1989.
- SMITH, C.S.; GNODI, M.T. 1959. Gravimetric Methods. Cambridge - MA, 1959. Disponível em: <[http://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Analytical%20Chemistry%202.0/Text\\_Files.html](http://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Analytical%20Chemistry%202.0/Text_Files.html)>. Acesso em: 24 jun. 2014.
- SOUSA, F.F.O.; LUZARDO-ÁLVAREZ, A.; BLANCO-MÉNDEZ J.; OTERO-ESPINAR, F.J.; MARTÍN-PASTOR, M.; SÁNDEZ MACHO, I. Use of <sup>1</sup>H NMR STD, Water-LOGSY, and Langmuir monolayer techniques for characterization of drug-zein pro-

tein complexes. Eur. J. Pharm. Biopharm., v. 85, n. 3, p. 790-8, 2013.

TEN CATE, J.M. The need for antibacterial approaches to improve caries control. Adv. Dent. Res., v. 21, n. 1, p. 8-12, 2009.

TINANO, R.A. Relatório de química analítica quantitativa: Métodos gravimétricos por volatilização e precipitação. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Departamento Acadêmico de Química. Minas Gerais. 2009.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C. O Gênero *Copaifera* L. Quím. Nova, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 273-86, 2002.

VASCONCELOS, K.R.F.; JUNIOR, V.F.V.; ROCHA, W.C.; BANDEIRA, M.F.C.L. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne. Rev. Bras. Farmacog., v.18, p. 733-738, 2008.



# AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE OVOS E LARVAS DE PARASITAS INTESTINAIS EM PRAÇAS NO MUNICÍPIO DE MACAPÁ-AP

Felipe Ferreira Rêgo<sup>1</sup>

Madson Ralide Fonseca Gomes<sup>2</sup>

**RESUMO:** Doenças relacionadas a parasitoses mostram-se um relevante problema de saúde pública devido à grande quantidade de diferentes complicações que estas podem causar, e o fornecimento de dados epidemiológicos é a base para criação de projetos e programas que tem como objetivo reverter esse quadro. O trabalho visou avaliar a frequência de ovos e larvas de helmintos no município de Macapá, assim como a sazonalidade de contaminação nas praças públicas nos períodos compreendidos como inverno e verão, pois as condições climáticas como temperatura e umidade podem influenciar diretamente os parasitas. Nesse estudo foi analisado 1 amostra contendo 3 pontos estratégicos de solo de cada praça, em um total de 39 praças, divididas em diferentes bairros. A escolha foi feita de acordo com as zonas que dividem o município, totalizando 39 amostras em recipientes devidamente vedados. Os métodos utilizados foram: método de Hoffman, método Direto, método de Willis, método de Faust, Método de Ritchie e o método de Baermann Moraes. Os resultados mostraram a alta carga parasitária nos locais públicos, principalmente na época do inverno, onde destacamos a alta prevalência de ovos *Toxocara* spp. no período do verão, e no período do inverno obtivemos a prevalência maior de ovos de *Ancylostoma* spp., o que justifica uma ação imediata do poder público em relação a presença desses agentes no meio ambiente, com controle de animais, saneamento básico, disponibilização de tratamento para os doentes e manutenção periódica das praças públicas

Palavras-Chaves: Parasitoses, Helmintos, Ancilostomídeos, solo de praças.

## 1 INTRODUÇÃO

**E**m nossa região amazônica, de clima tropical, há fatores-chaves que contribuem para a alta prevalência de parasitas, o que inclui o Brasil nas grandes estatísticas mundiais de morbidade por parasitismo. Para Silva e colaboradores (2009) o fator socioeconômico e as condições precárias higiênico-sanitárias são características importantes que explicam em parte a sua elevada prevalência no Brasil, afetando pessoas de todas as idades. Além do clima dos trópicos com umidade elevada, alto índice de chuvas e temperatura apropriada, há outros fatores que contribuem para essa estatística, tais como o nível socioeconômico da população, sendo mais prevalente em populações mais carentes; saneamento básico, por se tratar de seres

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PROBIC/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientador de iniciação científica. Professor do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

em que a forma infectante da maioria pode ser transmitida através de água e alimentos contaminados, e outros fatores associados, como a falta de informação sobre os parasitas e suas doenças, falha na educação sanitária, e a distância entre uma comunidade e o estabelecimento de saúde mais próximo. (MENEZES, 2013)

Segunda Silva et al (2009) as doenças parasitárias mostram-se um relevante problema de saúde pública, visto a vasta quantidade de indivíduos que sofrem das alterações no organismo causados por esses agentes. O parasitismo pode ocorrer tanto em humanos quanto em animais, dessa forma não podemos deixar de lado a zoonoses que afetam diretamente o homem, e que são largamente transmitidas em qualquer parte do mundo, através de animais domésticos como cães e gatos. (PASTÓRIO et. al., 2009)

Tais características apontam para a possibilidade do solo de praças e locais públicos estarem sendo fontes de disseminação dos parasitas, hipótese essa sustentada pelo fato do meio ambiente fazer parte do ciclo biológico de vários tipos de helmintos, e ainda à resistência da forma infectante por tempos que duram de dias a meses (MOURA 2013) (ARAÚJO, 2011). Todos os fatores descritos mostram como isso configura um sério problema de saúde pública, e não somente local, mas também mundial, visto a facilidade de como se propaga as doenças. (MORO, 2008)

Há poucos estudos relacionados a doenças provocadas por parasitoses em nosso município, e não há qualquer levantamento de dados que mostrem com precisão o número de casos que envolvem helmintos ou protozoários. Essa escassez de informações compromete o planejamento para o combate a essas enfermidades, e ainda impedem que projetos sejam desenvolvidos com eficácia total nessa área. O estudo epidemiológico faz-se necessário para o levante de dados confiáveis e úteis, a fim de combater os agentes causadores das doenças e controlar a presença desses agentes em nosso ambiente.

O objetivo maior desses dados é a promoção de medidas de saúde pública, dessa forma esse estudo avalia a prevalência de ovos e larvas de helmintos em praças no

município de Macapá, utilizando métodos específicos, com a finalidade de obtermos dados concretos sobre a taxa de incidência destes, para que as devidas medidas sejam tomadas com fundamentos reais.

O projeto busca a análise dos solos das praças no período de janeiro e fevereiro, meses que correspondem ao inverno em Macapá, visto que na coleta anterior, foram nos meses de setembro e outubro, buscando um comparativo de resultados. Condições climáticas tais como temperatura e umidade podem influenciar diretamente os parasitas (como por exemplo, a expansão desses helmintos ou mudança morfológica), o clima também influencia na prevalência do parasita nesses locais.

## 2 OBEJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

➤ Avaliar a presença de ovos e larvas de helmintos nas praças do município de Macapá.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

➤ Determinar se há presença de ovos de helmintos pelo método Direto, Willis e pelo método de Hoffman, Faust e Ritchie.

➤ Identificar a presença de larvas de helmintos pelo método de Baermann Moraes.

➤ Taxar dados epidemiológicos fidedignos em relação a parasitoses presentes em praças no município de Macapá.

➤ Discorrer sobre as parasitoses mais prevalentes em praças no município de Macapá.

➤ Fornecer dados concretos para o suporte de novas pesquisas relacionadas a parasitoses no município de Macapá.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

A cidade de Macapá possui em média 60 bairros com 46 praças em todo o município, (dado fornecido pela secretaria municipal de obras de Macapá). Sabendo-se que a cidade é dividida por zona norte, zona sul, zona leste e centro, decidiu-se que as praças incluídas no estudo, deveriam ser selecionadas de tal forma que a análise da pesquisa e os resultados possam ser úteis abrangendo todo o município, assim abordamos as praças mais movimentadas de cada zona da cidade, excluindo as que se encontravam totalmente abandonadas, as que estavam em processo de inauguração ou que passavam por reformas pelo poder público.

Dessa forma, foi feita a análise do solo de praças de diferentes bairros, distribuídos pelas quatro zonas, abrangendo o município todo da melhor maneira possível, selecionando 39 locais públicos ao todo, entre praças e arenas com praças.

Os bairros selecionados estão agrupados de acordo com a zona da cidade:

- Zona Norte: Jardim Felicidade I, Jardim Felicidade II, Renascer
- Centro: Central, Jesus de Nazaré, Perpétuo Socorro, Santa Inês, Trem, Santa Rita.
- Zona Sul: Congós, Buritizal, Universidade, Beírol, Araxá, Muca, Marco Zero, Santa Inês
- Zona Leste: Cabralzinho, Marabaixo, Alvorada.

A coleta foi realizada em locais estratégicos das praças, onde se observava o maior movimento de pessoas e animais, ou em locais que se mostravam ideais para o desenvolvimento do parasito. Foram realizadas três coletas por praça, sendo que duas foram coletadas nas extremidades da praça, e uma das coletas foi realizada na parte central da mesma.

A coleta consistiu em uma amostragem retirada da areia ou terra, (cerca de 200g de amostra), e armazenado em recipientes descartáveis vedados com plástico, sendo, posteriormente, imediatamente analisados de acordo com os métodos gerais e específicos.

Os métodos escolhidos foram selecionados de acordo com os tipos de parasitoses mais descritos segundo outros trabalhos, a exemplo de Moro (2008) e Polli (2009), semelhantes já realizados em outras cidades. Os métodos utilizados na análise foram os seguintes:

#### **Método de Hoffman (1934) - sedimentação espontânea.**

O método trata-se de um repouso espontâneo do filtrado da amostra, que será depositado em água, a sedimentação irá fazer com que os ovos mais pesados desçam até o fundo do recipiente, e aumente a concentração de ovos por ml, facilitando a procura. Colocou-se cerca de 2 gramas de amostra em um frasco de vidro com aproximadamente 50 ml de água destilada, e após, foi homogeneizado. Após, o homogeneizado foi filtrado através de gaze cirúrgica dobrada em 8 partes, em um cálice de sedimentação de 200 ml de capacidade. Despejamos mais 50 ml sobre os detritos na gaze, mexendo com palito. Acrescentamos água destilada no cálice até a altura de 2 dedos abaixo da borda superior e deixamos a suspensão em repouso durante 2 horas. Após esse período, decantamos cuidadosamente o sobrenadante e com o auxílio de uma pipeta pasteur, retiramos aproximadamente 0.1 ml do sedimento, colocamos em uma lâmina, adicionamos corante lugol e examinamos ao microscópio óptico.

#### **Método de Faust**

O método consiste no preparo de uma amostra para análise com uma maior precisão, sem muitos interferentes que possam levar a uma melhor interpretação dos resultados. Homogeneizou-se 10 gramas da amostra em 20 ml de água destilada, em um frasco, onde foi filtrado através de uma gaze dobrada em quatro, em um tubo de wasserman, e logo após, centrifugou-se a 2000 rpm dentro de um minuto, foi desprezado o sobrenadante, posteriormente ressuspendido o sedimento em água destilada e centrifugou-se por mais 2 ou 3 vezes, até o momento em que o sobrenadante estivesse bem claro. Após última lavagem, desprezou-se o sobrenadante, e homogeneizou-se o sedimento com solução de sulfato de zinco a 33% com densidade de 1.180, e foi centri-

fugado novamente a 2000 rpm por 1 minuto. Colocamos uma alça de platina em contato com a película superficial da solução de sulfato de zinco, e em seguida a solução colhida foi colocada sobre uma lâmina para a análise.

### **Método Direto**

O método consiste em uma análise direta da amostra pré-diluída, para análise imediata em laboratório. Diluímos uma pequena quantidade da amostra em copos descartáveis a fim de facilitar a técnica e, colocamos uma pequena quantidade da amostra em uma lâmina de microscopia. No caso da procura de ovos de helmintos, foi utilizado o lugol como o líquido corante. Colocamos a lamínula sobre a amostra e verificamos se a espessura estava fina o suficiente para permitir a passagem da luz. Logo após examinamos em microscópio.

### **Método de Baermann Moraes (Rey 2001) - Termotropismo.**

O método consiste no fundamento do termotropismo e hidrotropismo que as larvas possuem, e a sedimentação das mesmas através do método. Ou seja, esses parasitas tendem a migrar de um meio frio, para um meio mais quente ou aquecido. No método utilizamos também um filtro para que na amostra final, haja o mínimo de detritos que possam atrapalhar na observação. Utilizamos funis adaptados para a técnica e selamos o fundo para não haver passagem alguma de água. Adicionamos água morna com a temperatura entre 40 a 42 °C. Sobre o funil, colocamos uma gaze dobrada 4 vezes, e diretamente sobre a gaze depositamos 3 a 4 g de amostra, deixando-as em contato com a água. Deixamos em repouso por 50 a 60 minutos e após esse tempo analisamos o sedimento em microscópio.

### **Método de Willis (1921) - ovos leves**

Supersaturamos em um Becker, uma solução de água e NaCl, misturando com bastão de vidro, até que o sal não se dissolvesse mais. Posteriormente passamos a solução para vários recipientes de plástico descartável (copos descartáveis), sem encher completamente. Misturamos uma pequena quantidade da amostra na solução de Na-

Cl em cada copo e em seguida, depositamos uma lâmina na parte superior de cada copo, logo depois completamos a quantidade restante com solução de NaCl, até o momento em que a superfície da solução com a amostra encostasse na superfície inferior da lâmina. Aguardamos o tempo de 20 minutos para cada lâmina e em seguida, retiramos a lâmina, adicionamos o lugol e por fim analisamos em microscópio.

### **Método de Ritchie**

O método de Ritchie é uma técnica de centrifugo-sedimentação, onde se baseia na densidade do material a ser analisado. Com o auxílio de uma palheta de madeira, homogeneizamos em um béquer aproximadamente 2 gramas da amostra, e filtramos para um tubo de ensaio. Centrifugamos o tubo de ensaio contendo a amostra a aproximadamente 2500 rpm por cerca de 2 minutos, repetindo estas etapas de homogeneização e centrifugação, com o descarte do sobrenadante, até a obtenção de um sobrenadante límpido. Após a lavagem, acrescentamos 5mL de formaldeído, e deixamos em repouso por cerca de 5 minutos, posteriormente foi acrescentado também 2 mL de acetato de etila, e agitados rigorosamente por cerca de 30 segundos, onde a pressão do tubo foi retirada e a solução foi centrifugada novamente por cerca de 2 minutos a aproximadamente 2500 rpm. Após a centrifugação, foi descartado o sobrenadante, sendo mantido apenas o sedimento, a este adicionou-se algumas gotas de formaldeído, e então analisado no microscópio

### **ESTATISTICA**

O método de levantamento estatístico para a prevalência das parasitoses será feito pelo formato simples, através da alimentação de dados em tabelas, utilizando para o isso o programa Microsoft Excel 2010 fornecido pela empresa Microsoft Corporation.

As informações serão mostradas em tabelas, apresentando dados em formato de percentagem, comparando a quantidade de resultados positivos para cada tipo de parasita em relação a quantidade de praças a serem investigadas.

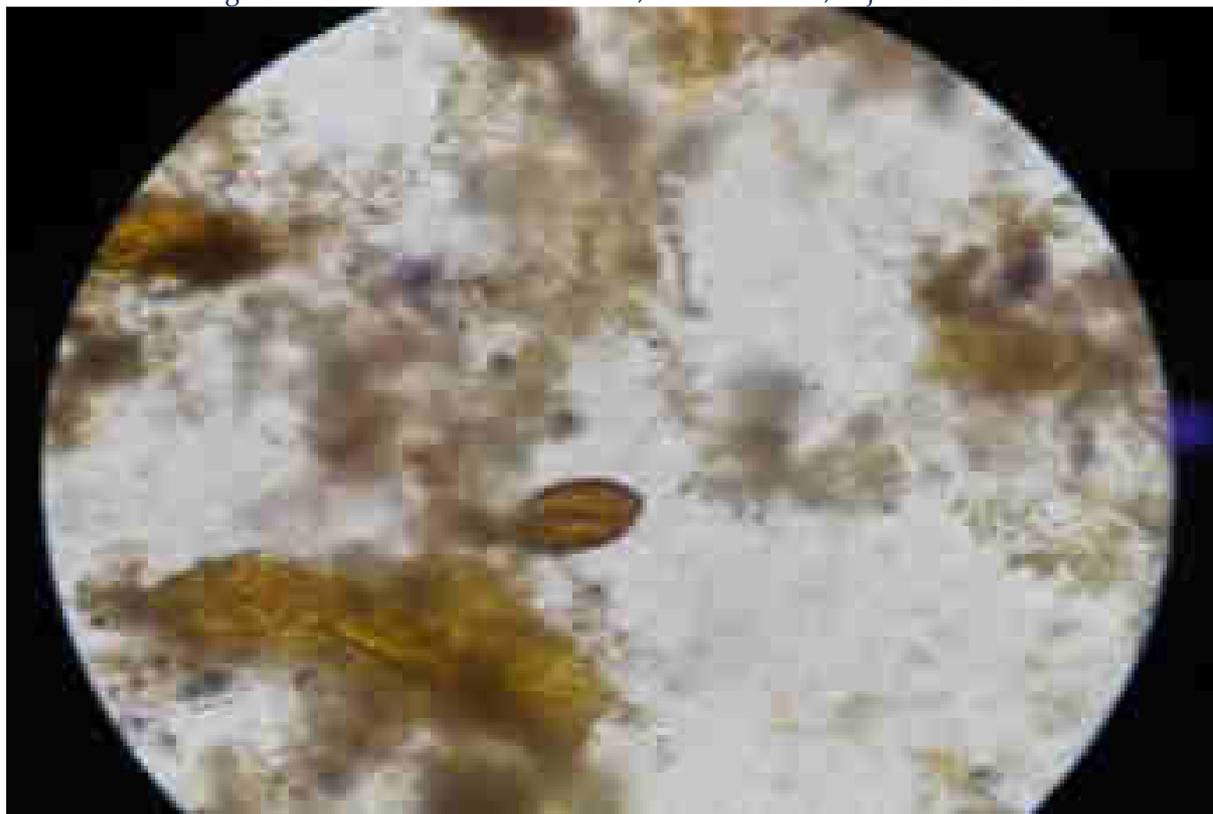
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 nos mostra o percentual de resultados obtidos pelo Método Direto no período do inverno, demonstrando estaticamente uma porcentagem maior de larvas (71,80%), e de ovos totais (71,80%), sendo que o número de praças positivas aumentou consideravelmente.

**Tabela 1** - Porcentagem de amostras positivas pelo método Direto, análise de 39 praças em Macapá.

Estação:	Verão			Inverno			
	Método Direto	Positivo	Negativo	Nº de praças positivas	Positivo	Negativo	Nº de praças positivas
Larvas Totais		35,89%	64,11%	14/39	74,36%	25,64%	29/39
Ovos Totais		38,46%	61,54%	15/39	71,80%	28,20%	28/39
Total Encontrado		64,10%	35,9%	25/39	82,05%	17,95%	32/39

Figura 1 - Ovo de *Trichuris trichiura*, método Direto, objetiva de 40x.



Fonte: Primária

Prosseguimos com as análises pelos métodos de Willis (tabela 2), Hoffman (tabela 3), Baermann Moraes (tabela 4), demonstrando o comparativo de resultados nos períodos de verão e inverno, sendo que os métodos de Faust e Ritchie foram inseridos

na pesquisa para uma maior avaliação e eficácia dos métodos, tabela 5 e 6 respectivamente.

**Tabela 2** - Porcentagem de amostras positivas pelo método Willis, análise de 39 praças em Macapá.

Estação:	Verão			Inverno		
Método de Willis	Positivo	Negativo	Nº de praças positivas	Positivo	Negativo	Nº de praças positivas
Larvas Totais	17,94%	82,06%	7/39	30,77%	69,23%	12/39
Ovos Totais	66,66%	33,33%	26/39	76,92%	23,08%	30/39
Total Encontrado	71,79%	28,21%	28/39	76,92%	23,08%	30/39

**Tabela 3** - Porcentagem de amostras positivas pelo método Hoffman, análise de 39 praças em Macapá.

Estação:	Verão			Inverno		
Método de Hoffman	Positivo	Negativo	Nº de praças positivas	Positivo	Negativo	Nº de praças positivas
Larvas Totais	48,71%	51,29%	19/39	61,54%	38,46%	24/39
Ovos Totais	61,53%	38,47%	31/39	71,79%	28,21%	28/39
Total Encontrado	82,05%	17,95%	32/39	82,05%	17,95%	32/39

**Tabela 4** - Porcentagem de amostras positivas pelo método Baermann, análise de 39 praças em Macapá.

Estação:	Verão			Inverno		
Método de Baermann	Positivo	Negativo	Nº de praças positivas	Positivo	Negativo	Nº de praças positivas
Larvas Totais	25%	75%	10/39	71,79%	28,21%	28/39
Ovos Totais	0%	100%	0/39	7,69%	92,31%	3/39
Total Encontrado	25%	75%	10/39	71,79%	28,21%	28/39

**Tabela 5**- Porcentagem de amostras positivas pelo método de Faust, análise de 39 praças em Macapá.

Método de Faust	Positivo	Negativo	Nº de Praças Positivas
Larvas Totais	28,21%	71,79%	11/39
Ovos Totais	25,64%	74,36%	10/39
Total Encontrado	38,50%	61,50%	15/39

**Tabela 6** - Porcentagem de amostras positivas pelo método de Ritchie, análise de 39 praças em Macapá

Método de Ritchie	Positivo	Negativo	Nº de Praças Positivas
Larvas Totais	7,80%	92,20%	3/39
Ovos Totais	7,80%	92,20%	3/39
Total Encontrado	12,82%	87,18%	5/39

Os locais analisados contemplam áreas centrais e periféricas do município, o qual para melhor análise foi dividido por zonas norte, sul, leste e central, com várias praças por zona como mostrado na Tabela 7 e Figura 3. Essas praças são diferenciadas entre si, algumas com presença de lago, maior ou menor quantidade de árvores, solos úmidos e secos e em vários desses pontos havia fezes, que foram coletadas e analisadas juntamente com o solo da praça, essas fezes podem ser de animais ou mesmo de

indivíduos moradores de rua, sendo esse último à minoria.

**Tabela 7** - Quantidade de Praças por zonas no município de Macapá / AP

Zonas do Município	Nº de Praças
Zona Norte	7
Zona Sul	12
Zona Leste	9
Zona Central	11
Total de Praças	39

**Tabela 8** - Relação de porcentagem dos resultados positivos por zona, segundo os métodos.

Métodos	Porcentagem de resultados positivos pelo número de praças por zona Verão			
	Norte (7*)	Sul (12*)	Leste (9*)	Central (11*)
Direto	42,85% (3*)	58,33% (7*)	100% (9*)	54,54% (6*)
Hoffman	57,14% (4*)	91,66% (11*)	88,88% (8*)	81,81% (9*)
Willis	100% (7*)	75% (9*)	55,55% (5*)	63,63% (7*)
Baermann	0% (0*)	33,33% (4*)	33,33% (3*)	27,27% (3*)

Métodos	Porcentagem de resultados positivos pelo número de praças por zona Inverno			
	Norte (7*)	Sul (12*)	Leste (9*)	Central (11*)
Direto	85,72% (7*)	66,66% (8*)	88,88% (8*)	90,90% (10*)
Hoffman	100% (7*)	75% (9*)	100% (9*)	63,63% (7*)
Willis	57,14% (4*)	91,66% (11*)	88,88% (8*)	63,63% (7*)
Baermann	71,42% (5*)	75% (9*)	88,88% (8*)	54,54% (6*)
Faust	41,66% (5*)	28,57% (2*)	55,55% (5*)	27,27% (3*)
Ritchie	5,13% (2*)	0% (0*)	5,13% (2*)	2,56% (1*)

**Figura 2** - Ovo de *Toxocara* spp., método Direto, objetiva de 40x.



Fonte: Primária

A porcentagem do número de achados parasitológicos no período do inverno foi consideravelmente maior, corroborando com outras pesquisas que apresentaram diferenças na positividade de contaminação parasitaria no solo de praças públicas de acordo com as estações do ano. (ONUMA et al., 2014)

Os efeitos nas variações ambientais demonstraram grande relevância na frequência de parasitas em praças públicas, principalmente os de caráter zoonótico, aumentando assim o risco de infecção em determinadas épocas do ano. Fatores como alta umidade, temperaturas (20C a 30C) e boa oxigenação, estão intimamente ligados com o desenvolvimento de ovos de helmintos, para que ocorram os processos de embriogênese, formação da larva e em alguns casos a eclosão. (MELLO, 2010)

Enquanto que no período do verão obtivemos um número maior de ovos de *Toxocara* spp, no período do inverno encontramos uma alta incidência de ovos de *Ancylostoma* spp, com uma porcentagem 53,85% de positividade em 21 das 39 praças analisadas, onde esse aumento está intimamente associado aos fatores ambientais.

Segundo Neves e colaboradores (2010) para o desenvolvimento dos ovos de ancilostomídeos em meio exterior, faz-se necessário um ambiente com boa oxigenação e ainda alta umidade com temperatura elevada. Essas são condições indispensáveis para que o ovo embrionado pelo seu ciclo biológico venha a se transformar em larva de terceiro estágio, do tipo filarióide, denominada larva infectante. Dentre os sintomas pertinentes a ancilostomose, são dores na região abdominal, dor epigástrica, falta de apetite, indigestão, cólica, indisposição, náuseas, vômitos, podendo em alguns casos haver a diarreia sanguinolenta. A cronicidade de sua infecção causa anemia pela deficiência de ferro.

No trabalho realizado por Polli e colaboradores (2009), observa-se que a temperatura e a presença de chuva apresentaram associação entre a presença ou não de ovos de *Toxocara* spp,, sendo observado que as altas temperaturas facilitariam uma ocorrência maior de ovos. A exposição da luz foi um fator primordial no desenvolvimento e viabilidade dos ovos de *Toxocara* spp., sendo observado que ovos mantidos

em obscuridade não conseguiam evoluir para a fase de larva do primeiro estágio, já em temperaturas mais elevadas apresentavam um alto desenvolvimento (QUEIROZ et al., 2009). Os dados apresentados corroboram com a literatura, na incidência dos ovos de *Toxocara spp.*, onde no período do verão obtivemos 74,35% de positividade em 29 das 39 praças, já no período do inverno obtivemos 28,20% de positividade em 11 das 39 praças analisadas. A diminuição da incidência dos ovos de *Toxocara* estaria intrinsicamente associada ao período das chuvas, fator esse que diminui as altas temperaturas, e dificultou a incidência direta dos raios solares.

O processo de contaminação em humanos por ovos infectados de *Toxocara spp.* acontece quando, acidentalmente ingerem ovos através da contaminação pelo solo infectado, comida, fômites ou contato direto com cães (TRAUB et al., 2005). De acordo com Smith et al. (2009) os ovos abrem-se no intestino liberando as larvas de segundo estágio, que migram através dos tecidos, inclusive o cérebro, por longos períodos de tempo se desenvolvendo, esses parasitas podem permanecer viáveis no organismo por pelo menos 7 anos após a infecção. A larva pode também migrar no corpo humano, porém não amadurecerem, em vez disso, elas encistam como larva de segundo estágio.

A Tabela 7 mostra a alta prevalência de *Ancylostoma spp.*, e outros helmintos transmitidos por solo. De um total de 342 espécies de helmintos, em torno de 20 podem ser consideradas causadoras de doenças, dessas, 6 espécies (*Enterobius*, *Ascaris*, *Necator*, *Ancylostoma*, *Trichuris* e *Strongyloides*) juntas são responsáveis por afetar mais metade de toda a população do mundo (HORTON, 2003) e elas se mostram presentes em nossas análises.

Tabela 9 - Relação de Parasitas positivos por métodos e total de praças positivas – Inverno.

Parasitas	Direto	Hoffman	Willis	Baermann	Faust	Ritchie	Nº de praças positivas
<b>Larvas</b>	29/39	24/39	12/39	28/39	11/39	3/39	35/39
Rabditóides e Filarióides	263	175	23	378	23	12	
<b>Ovos</b>	28/39	28/39	30/39	3/39	30/39	3/39	38/39
<i>Ascaris lumbricoides</i>	7	3	4	-	1	-	11/39
<i>Toxocara</i> spp.	10	7	4	-	3	-	11/39
<i>Enterobius</i> spp.	1	-	1	-	1	-	2/39
<i>Strongyloides</i> spp.	6	5	14	-	3	-	12/39
<i>Ancylostoma</i> spp.	28	4	30	1	2	-	21/39
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1	2	3	-	2	-	2/39
<i>Hymenolepis nana</i>	-	1	1	-	-	-	2/39
<i>Lagochilascaris minor</i>	4	2	-	-	-	-	3/39
<i>Trichostrongylus</i> spp.	-	7	2	-	-	-	5/39
<i>Gnathostoma</i> spp.	-	1	-	-	-	-	1/39
<i>Trichuris trichiura</i>	1	2	8	-	-	-	3/39
<i>Isospora belli</i>	1	14	1	-	-	3	4/39
<i>Dipylidium caninum</i>	-	1	1	-	1	-	2/39
Não Identificado*	67	67	64	2	8	2	36/39

\*Ovos e Larvas que apresentam morfologia confirmatória de que são parasitas, porém não identificados, visto a grande semelhança entre espécies ou pela dificuldade visual e morfológica de identificação do parasita.

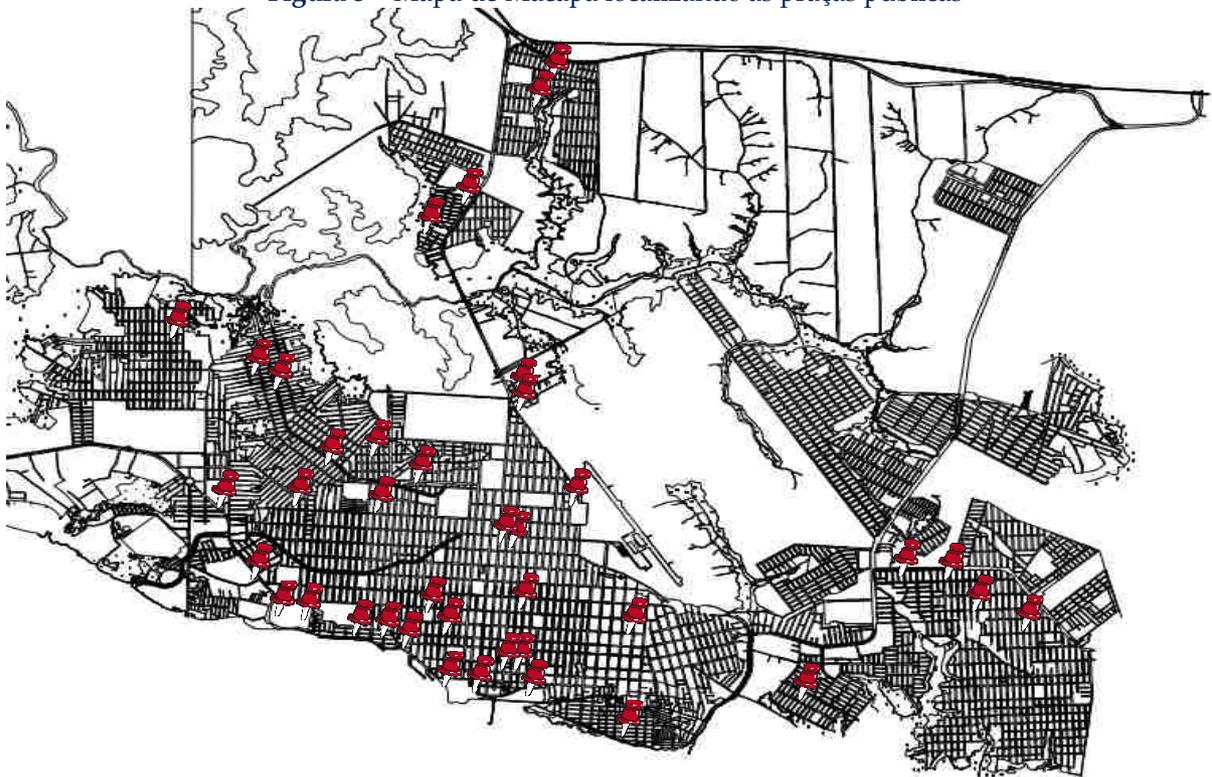
Fonte: Primária

O método de Baermann Moraes apresentou na época do inverno uma incidência muito maior, com positividade de 71,79 % em 28 das 39 praças, em comparação na época do verão com 25% de positividade em 10 das 39 praças. No período do inverno as condições propiciam uma maior contaminação de larvas nas praças públicas, resultados que se assemelham no trabalho de Almeida et al (2010), onde verificou-se um número maior de larvas nos meses chuvosos, já nos períodos com um baixo índice pluviométrico e a alta incidência da luz solar, foi observado uma diminuição de larvas, fatores esses associados ao ressecamento dos ovos e eliminação das larvas dos helmintos. Das 39 praças 37 apresentaram positividade em relação à presença de larvas, o que nos dá 94,87 de positividade, apresentando índices extremamente altos nesses locais.

Os métodos de Ritchie e de Faust não apresentaram uma eficiência satisfatória no estudo, onde observamos uma positividade do método de Ritchie de 12,82% totalizando 5 das 39 praças e no método de Faust de 38,50% de positividade, totalizando 15 praças, resultado que contrasta com os métodos Direto, Willis, Baermann Moraes e Hoffman que apresentaram alta carga parasitaria das amostras. Segundo Guizelini et

al. (1987), o método de Ritchie não apresenta uma adequada sensibilidade para ovos pesados, e demonstra uma limitação no processo de diagnóstico ou inquéritos epidemiológicos, com foco para as parasitoses *S. mansoni* e *A. lumbricoides*. Matesco et al. (2011), aborda que os parâmetros de densidade do sulfato de zinco, quando modificados para uma maior densidade aumentam a taxa de recuperação de ovos, e a utilização de dicromato de sódio, apresentou uma maior eficiência em solos arenosos, parâmetros esses que podem ter sido os causadores da baixa eficiência do método aplicado

**Figura 3** – Mapa de Macapá localizando as praças públicas



## 5 CONCLUSÃO

Os fatores associados a umidade, precipitação e temperatura, demonstram alta relevância da carga parasitária nas praças públicas de Macapá, onde obtivemos 100% de positividade em pelo menos um dos seis métodos aplicados na pesquisa. Não podemos descartar fatores como a aglomeração pública, variação do processo de manutenção decorrido no período das coletas, surgimento de locais de lixo irregulares utili-

zado pela população de forma irregular, aumento de animais, mendigos ou meninos de rua que por sua vez podem depositar suas fezes em local público.

Sabemos que dentro de uma cidade há diversos tipos de populações diferentes, e apesar de isso não influenciar expressivamente nos resultados de maneira geral, podem servir de justificativas isoladas para achados parasitológicos nas praças. Se por um lado temos praças em bairros nobres, bem cuidadas, e com um número alto de pessoas presentes; por outro lado temos praças abandonadas pelo serviço público, que servem de moradia para animais e indivíduos sem teto. É importante notar o que o que há em comum na maioria das localidades, é a presença de animais, como cães e gatos, circulando livremente, e em contato com o homem.

Os dados obtidos demonstram a gravidade da situação em relação ao parasitismo em locais públicos, principalmente na época do inverno, onde foi constatado um aumento da incidência das zoonoses. Os parasitas veterinários podem causar patologias tão severas quanto os parasitas humanos, porém não é levado a sério esse problema, talvez, justificado pelo fato de até o momento não haver pesquisas com o objetivo de investigar esses locais na capital.

Há leis que promovem o cuidado em relação às fezes de animais domésticos, onde o dono do animal pode ser punido com multa caso não recolha as fezes que animal de estimação pode depositar no solo. E no município de Macapá não há um controle efetivo de animais, a fim de diminuir o risco de contaminação pelo contato com eles, e nem uma manutenção e revitalização efetiva de diversas praças e arenas públicas para que a comunidade desfrute do lazer sem maiores preocupações. Ao entrarmos em contato com o governo público, o mesmo informou que não há nenhum tipo de programa contra a contaminação por helmintos transmitidos por solo.

Sem dúvida é necessário que haja uma conscientização das comunidades dos bairros, em relação aos seus animais domésticos, e ainda sobre os cuidados que devem tomar no momento do lazer, para que a prevalência de parasitas em praças e arenas diminua. E é necessário também que o poder público tome providências em re-

lação ao controle de animais, saneamento básico para a população, promoção de exames e tratamentos de doenças parasitológicas, e manutenção constante desses locais para preservar a saúde e manter o bem-estar.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. B. P. F.; CÂNDIDO, A. C.; SOUSA, V. R. F. Larvas de helmintos em áreas de recreação de creches de Cuiabá, **Revista Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, n. 2, p. 469-472, abr./jun. 2010
- ARAÚJO, F. R.; RODRIGUES, R. G.; CAVALHAES, J.; SMIYOSHI, M. I.; SALGADO, F. P.; ARMSTRONG, W. A.; OBERG, C.; ORELLANA, J. J. Presencia de huevos de parásitos con potencial zoonótico en parques y plazas públicas de la ciudad de Temuco, Región de La Araucanía, Chile. **Arch Med Veterinário**. V. 43, p. 127-134, 2011.
- GUIZELINI, E.; CASTILHO, V. L. P.; MOREIRA, A. A. B.; CAMPOS, R. AMATONETO, V.; SANT'ANA, E. J.; PINTO, P. L. S.; TAKIGUTI, C. K. Pesquisa de ovos "pesados" de helmintos nas fezes: estudo comparativo entre os métodos da sedimentação espontânea em água e de Ritchie. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo n. 20, p. 23-24, Jan-Mar, 1987
- HORTON, J. Human gastrointestinal helminth infections: are they now neglected diseases? **Trends in Parasitology**. V; 19, n. 11, nov., 2003.
- MATESCO, V. C.; MENTZ, M. B.; ROTT, M. B.; SILVEIRA, C. O. Contaminação sazonal por ovos de helmintos na praia de Ipanema, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista de Patologia Tropical. Porto Alegre**. Vol. 35 (2): 135-141. maio-ago. 2006
- MELLO, C. B. **Avaliação parasitológica e contaminação sazonal de areias de parques públicos na região da zona leste da cidade de São Paulo**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Faculdade de Saúde Pública, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, 2010
- MENEZES, R. A. O.; GOMES, M. S. M.; BARBOSA, F. H. F.; BRITO, G. C. M.; PROIETE JUNIOR, A. A.; COUTO, A. A. R. D. Parasitas Intestinais na População Residente em Áreas Úmidas em Macapá, Amapá, Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 13, n. 2, p. 10-18. 2013.
- MORO, F. C. B.; PRADEBON, J. B.; SANTOS, H. T.; QUEROL, E. Ocorrência de *Ancylostoma spp.* e *Toxocara spp.* em praças e parques públicos dos municípios de Itaqui e Uruguaiana, froneira oeste do Rio Grande do Sul. **Biodiversidade Pampeana**. v. 6, n. 1, jun. 2008.

- MOURA, M. Q.; JESKE, S.; VIEIRA, J. N.; CORRÊA, T. G.; BERNE, M. E. A.; VILLELA, M. M. Frequency of geohelminths in public squares in Pelotas, RS, Brazil. **Rev. Bras. Parasitologia Veterinária**. V. 22, n. 1, p. 175-178, jan-mar., 2013. V. 55, n. 4, p. 229-231, jul-ago., 2013.
- NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia humana**. 11 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2010.
- ONUMA, S. S. M.; MELO, A. L. T.; STOCCO, M. B.; SANTARÉM, V. A.; AGUIAR, D. M. Contaminação de solo por ovos de *Toxocara* spp. e outros geo-helminthos em comunidade rural do Pantanal Mato-Grossense. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 51, n. 1, p. 78-81, 2014.
- PASTÓRIO, C.; LIBERATI, M. N.; LEONARDO, J. M. L. Prevalência de parasitas de caráter zoonótico no solo de praças públicas em canis em Maringá, Paraná. In: VI Encontro internacional de produção científica Cesumar. Paraná, CESUMAR, 2009.
- POLLI, C.A.; GONÇALVES, A. C. A.; MACEDO, I. S. C.; ALMEIDA, M. R. G.; GATTI A.V. Ovos de *Toxocara* spp. (Nematoda: Ascarididae) – frequência, densidade e fatores ambientais na contaminação de solo de praças públicas. **Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo**. 2009; 54(3): 85-8.
- QUEIROZ, M. L.; MEHLMAN, F. M. G.; PASCHOALOTTI, M. A.; LESCANO, S. A. Z.; CHIEFFI, P. P. Efeito de variáveis ambientais na evolução de ovos de *Toxocara canis* em condições experimentais. **Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo**. 2009, 54(1): 6-8.
- SILVA, E. F.; SILVA, E. B.; ALMEIDA, K. S.; SOUZA, J. J. N.; FREITAS FILHO, L. C. Enteroparasitoses em crianças de áreas rurais do município de Coari, Amazonas, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n. 1, 2009.
- SMITH, H.; HOLLAND, C.; TAYLOR, M.; MAGNAVAL, J. F.; SCHANTZ, P.; MAIZELS, R.; How common is human toxocaríasis? Towards standardizing our knowledge. **Trends in Parasitology**. V. 25, n. 4, mar., 2009.
- TRAUB, R. J.; ROBERTSON, I. D.; IRWIN, P. J.; MENCKE, R.; THOMPSON, R. C. A. A. Canine gastrointestinal parasitic zoonoses in India. **Trends in Parasitology**. v. 21, n. 1, jan. 2005.



# AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA PIPER PELTATUM L., UMA PLANTA ANTIMALÁRICA PROVENIENTE DA BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA

Rodrigo Pinto da Costa<sup>1</sup>

Clarissa Silva Lima<sup>2</sup>

**RESUMO:** A malária faz parte do grupo das doenças negligenciadas. A resistência dos parasitas aos fármacos antimaláricos e exige a pesquisa constante de novos produtos mais potentes. A literatura relata aumento no número de casos de resistência e as plantas medicinais continuarão a ser a principal fonte na busca de novos medicamentos antimaláricos. A caapeba-do-norte tem sido utilizada no tratamento da malária na região amazônica. Neste estudo objetivou-se avaliar a toxicidade aguda do Extrato Bruto Etanólico de *P. peltatum* L. (EBEPp) em ratos wistar, fêmeas, de acordo com *Acute Toxic Class Method*. Após administração, foram avaliados nos tempos 0, 1h, 2h, 4h, 6h e 24h e a partir de então, diariamente, até o 14º dia após o tratamento, seguindo o *screening* hipocrático. No 14º dia foi realizada a eutanásia para retirada dos órgãos (coração, rins, pulmão, fígado, baço e cérebro), que após avaliação de possíveis alterações macroscópicas os mesmos foram pesados. Não foi encontrado sinais de toxicidade, porém encontrou-se variações significantes ( $p < 0,05$ ) na análise da massa ponderal, consumo de água e ração. A ausência de óbitos durante o período de avaliação, enquadra o EBEPp na categoria 5 (OECD, 2001). O tratamento foi capaz de alterar alguns parâmetros no *screening* hipocrático, tal como elevada irritabilidade e alterações na resposta ao toque, ao aperto da cauda e aos reflexos auriculares. Os resultados deste estudo certamente contribuirá para avaliação da segurança do EBEPp, porém, faz-se necessário mais estudos para concluir a avaliação do uso desta espécie.

**Palavras-chave:** *Piper peltatum* L., toxicologia, malária

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais como alternativa terapêutica vem atingindo um público cada vez maior. Este crescimento requer dos pesquisadores e estudiosos um maior empenho, no sentido de fornecer informações relativas ao sistema produtivo dessas plantas e preparo dos medicamentos, pois nem sempre as normas que garantem a qualidade dos fitoterápicos são cumpridas (CASTRO; FERREIRA, 2000).

A malária é uma doença infecciosa febril aguda causada pela infecção do ser humano por protozoários do gênero *Plasmodium*. Ela pode ser transmitida através da picada de fêmeas do mosquito Anopheles, principal forma de contágio, ou através da

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

placenta infectada para a criança em gestação, ou ainda pela transfusão sanguínea de um doador infectado para outro sadio, tendo, quatro espécies do parasita que infectam o ser humano, são estes *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* e *P. ovale*, mas somente os três primeiros ocorrem no Brasil (SVS, 2010; WHO, 2011). *Plasmodium vivax* possui um grande impacto na saúde humana, ocorrendo de 70 a 80 milhões de casos clínicos por ano. Sendo que mais de 50% dos casos ocorrem fora da África, porém o *Plasmodium falciparum* leva à sintomas diferentes, mais graves, considerado emergência médica (MÜLBERGUER et al, 2004).

Apesar dos esforços dos programas de controle no país, a malária continua sendo uma endemia em ascensão no Brasil. O estado do Amazonas vem apresentando aumento no número de casos nos últimos anos (SUÁREZ-MUTTI E COURA, 2007), e tem sido registrada resistência do parasita a todos os tipos de remédios antimaláricos em todo o mundo, incluindo derivados de Artemísia, o medicamento mais moderno. Atualmente, a OMS considera fundamental que se realizem investigações experimentais acerca das plantas utilizadas para fins medicinais e de seus princípios ativos, para garantir sua eficácia e segurança terapêutica (SANTOS, 2004).

Levantamento etnofarmacológico realizado por Silva (2002) em uma Comunidade Quilombola localizada em Macapá-AP, relatou as espécies Quina (*Quassia amara* L.), Camapú (*Physalis angulata* L.), Amor crescido (*Portulaca pilosa* L.) e Sacaca (*Croton cajucara* Benth.) como espécies utilizadas para tratamento da malária. E em estudo mais atual realizado por Costa (2013), no estado do Amapá, foram citados: Quina (*Quassia amara* L.) com 98 (75,38%), Camapú (*Physalis angulata* L.) com 22 (16,92%), Açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) com 11 (8,46%), Sacaca (*Croton cajucara* Benth.) com 10 (7,69 %), Caapeba (*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.) com 10 (7,69%) e Picão preto (*Bidens pilosa* L.) com 6 (4,61%), assim corroborando com este estudo.

Para tanto se faz necessário o levantamento das espécies medicinais da região amazônica, como primeiro passo para a adoção das plantas medicinais nos programas de atenção primária à saúde, o que pode resultar em diminuição de custos e amplia-

ção do número de beneficiados (MATOS, 1997) e assim corroborando com este estudo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL

A obtenção do material vegetal foi executada logo após a pesquisa sobre seu uso medicinal e o local onde poderia ser encontrado tal planta no estado do Amapá. A coleta do material vegetal foi realizada na cidade de Macapá na Rodovia do Pacoval, localizada no bairro Pantanal (Coord.: Lat. 0°4'33" N Long.: 51°2'11" O). Após a coleta do material, uma amostra foi levada para secar e prensar para confecção de uma exsiccata para devida identificação por profissionais, a partir dos modelos presentes no herbário do IEPA. O material teve confirmação de que se tratava da espécie *Pothomorphe peltata* (L.), porém, houve uma atualização de taxonomia, no qual a planta hoje é identificada como *Piper peltatum* L.. O material foi depositado no Herbário HAMAB e apresenta o número de coleta 001.

### 2.2 EXSICATA

A identificação da espécie vegetal foi feita a partir da exsiccata por pessoa capacitada e encaminhada para o IEPA no estado do Amapá obtendo o n° de depósito 001, identificado por Patrick Cantuária, Curador do Herbário Amapaense HAMAB.

### 2.3 PREPARO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DE *P. PELTATUM* (EBEPP)?

Após coleta, a parte a ser analisada foi separada, limpa e seca em estufa de ar circulante a 40°C, por 72 horas. Em seguida, foram moídas em moinho de facas e o pó resultante armazenado em sacos plásticos. O extrato foi preparado no Laboratório de Pesquisa em Fármacos da UNIFAP a partir do material vegetal pulverizado o qual foi adicionado etanol P.A na proporção de 1:10 (p/v). A mistura foi submetida à extração

por maceração a frio por 48h e o processo repetido três vezes, sendo posteriormente filtrada em papel de filtro qualitativo. A solução extrativa foi submetida à evaporação em evaporador rotativo até a remoção do solvente e obtenção do extrato bruto etanólico de *P. peltatum* (EBEPp).

## 2.4 ENSAIOS FITOQUÍMICOS

Esses testes visam o conhecimento de possíveis grupos químicos presentes no extrato bruto etanólico, realizados segundo Barbosa (2001). Neste estudo, foram realizados testes para Saponinas, Ácidos orgânicos, Polissacarídeos, Açúcares redutores, Fenóis e Taninos, Purinas, Alcaloides, Flavonoides, Resinas, Proteínas e Aminoácidos, Antraquinonas, Esteróides e Triterpenóides.

## 2.5 ENSAIOS DE TOXICOLOGIA (AGUDO)

### 2.5.1 Aspectos Éticos

O manejo e cuidado com os animais seguiram os princípios éticos da experimentação animal em conformidade com os princípios definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com os preceitos da legislação brasileira (Lei Arouca - Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008), e os critérios estabelecidos pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). O projeto adotado foi submetido ao CEUA e aprovado.

### 2.5.2 Animais

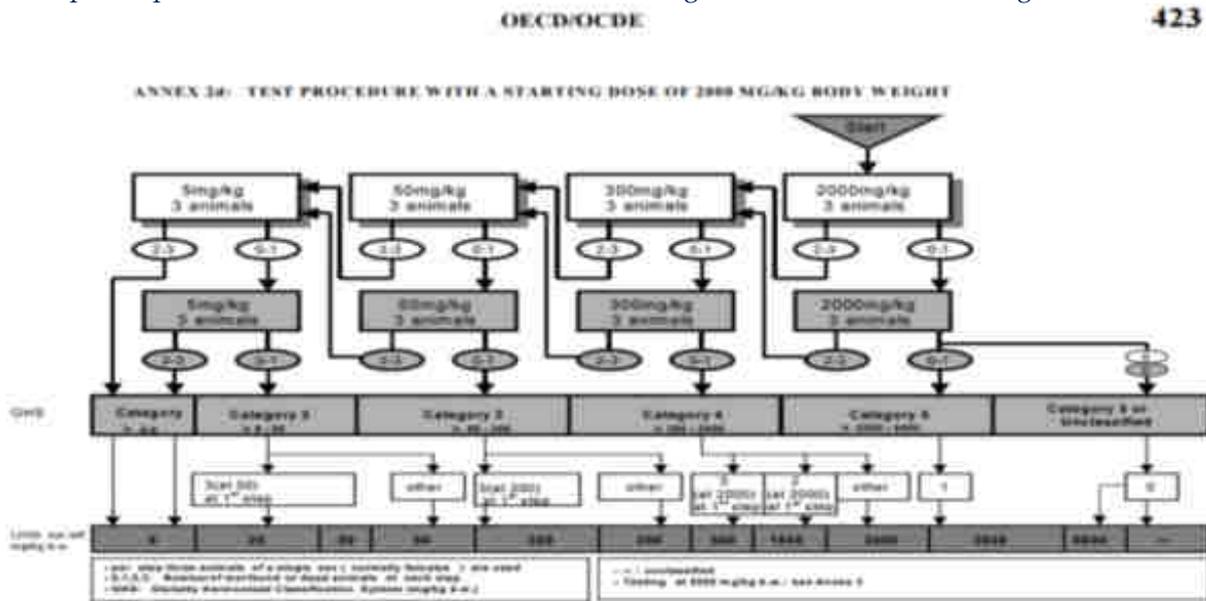
Foram utilizados nove (n=9) ratos wistar (*Rattus norvegicus albinus*), fêmeas, isogênicas, provenientes do Centro em Animais de Laboratório (CEMIB) da Universidade de Campinas- UNICAMP. Após a chegada dos animais, os mesmos passaram por um período de adaptação, sendo mantidos em estantes climatizadas com temperatura controlada ( $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) obedecendo a um ciclo claro/escuro de 12 horas (período claro

das 7:00 h da manhã as 19:00 h da noite) recebendo água e ração à vontade. Os animais ficaram em jejum por 10 horas anteriormente à administração, com acesso livre somente à água, com ração permitida, 3 horas após a administração da substância avaliada.

### 2.5.3 Estudo da toxicidade aguda e da dose letal 50 (DL<sub>50</sub>).

Para avaliação da toxicidade aguda do EBEPp, utilizou-se a metodologia descrita nas diretrizes da OECD- “Toxicidade Aguda de Classe” (OECD, 2001) (Figura 1).

Figura 1. Etapas para o procedimento da toxicidade aguda, iniciando pela dose de 2000 mg/kg, usando 3 fêmeas por etapa, de acordo com o método de Toxicidade aguda de Classe, baseado no guia da OECD 423, 2001.



De acordo com o guia 423, se ocorrer de 2-3 óbitos na dose utilizada, deve-se repetir o tratamento com dose reduzida. No caso de 0-1 óbitos é necessário repetir a dose utilizada com mais três animais, se então houver 2-3 óbito, se deve reduzir a dose, e nos casos em que a dose administrada ocasione 0-1 óbito, considerar, portanto, o valor da DL<sub>50</sub> como sendo maior que a dose administrada.

A dose inicial, selecionada entre as doses fixas de 5, 50, 300 e 2000 mg/kg, foi aquela mais propensa a produzir mortalidade. Assim, os animais receberam dose máxima de 2000 mg/kg por peso corpóreo (p.c), respectivamente, administrados em

uma única vez por gavagem (G2), sendo necessário solubilizar o mesmo em Tween 20%, não constatando óbitos, repetiu-se a dose de 2000 mg/kg com mais três animais (G3). Cada animal foi observado por 24 h e, mantidos separadamente sob observação por 14 dias.

#### 2.5.4 Screening hipocrático

Análise comportamental sistemática ocorreu nos períodos de 0 min, 1, 2, 4, 8, 12 e 24 h, e a cada 24 h por 14 dias, observando os seguintes parâmetros: *Estado de consciência e disposição* (irritação, resposta ao toque, frêmito vocal), *Coordenação motora* (resposta ao aperto da cauda, resposta ao aperto), *Tônus muscular* (força para agarrar e contorção), *Reflexos* (auricular e corneal), *Atividade do Sistema Nervoso Central* (tremores, convulsão, anestesia, sedação) *Atividade do Sistema Nervoso Autônomo* (micção, defecação, piloereção e respiração) e *Outros* (morte, straub, hipnose, lacrimação, ptose, ataxia, hipotermia, cianose, hiperemia, trem posterior, estresse, salivação, diarreia, sangramento). Os sinais de toxicidade, a época do seu aparecimento, a intensidade, a duração e a progressão dos mesmos foram anotados, tabulando-os numa escala de 0 a 4, sendo: ausente=0, raro=1, pouco=2, moderado =3 e intenso=4, para posterior análise.

#### 2.5.5 Avaliação Ponderal

Para a avaliação diária da massa corpórea dos animais, foi utilizada balança Gehaka BG4000, com capacidade de 4200g e precisão de 0,1g. O ganho de massa foi avaliado diariamente durante os 14 dias, conforme o protocolo experimental. Sendo selecionados os dias d1, d4, d7, d10 e d14 para análise estatística.

#### 2.5.6 Consumo de água e ração

O consumo de água e ração foi mensurado, diariamente, desde o início do tratamento, utilizando-se a balança citada anteriormente. Sendo diariamente oferecido

50g de ração para cada animal. Em relação à água, a cada dia também foi avaliado a ingestão de água, com disponibilidade de 250 mL diariamente. Sendo selecionados os dias d2, d5, d7, d10 e d14 para análise estatística.

### 2.5.7 Análise macroscópica

Após a eutanásia dos animais, os órgãos (coração, pulmões, baço, fígado, rins e cérebro) foram retirados e analisados quanto aos parâmetros macroscópicos, sendo: coloração e aspecto.

### 2.5.8 Peso relativo dos órgãos

O cálculo da massa relativa dos órgãos de cada animal foi realizado dividindo-se o peso de cada órgão (g) pelo peso corporal de cada animal no dia da coleta, e multiplicando-se o resultado por 100. O resultado foi expresso em g/100g de peso vivo (g/100g p.v.).

### 2.5.9 Análise Estatística

Os resultados obtidos nas análises estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (média  $\pm$  E.P.M). Para comparar os dados do consumo de água, ração, desenvolvimento ponderal, aplicou-se o ANOVA, seguido teste de Turkey. O nível de significância considerado foi de 5% ( $p < 0.05$ ). O software empregado foi o GraphPad Prism<sup>®</sup> (versão 5.03).

## 3 RESULTADOS

### 3.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DE *PIPER PELTATUM* L..

O estudo fitoquímico da *P. peltatum* L. iniciou-se com a obtenção do extrato bruto etanólico, na qual apresentou 23,77 g de rendimento a partir de 100g de folhas se-

cas. Resultados obtidos dos testes fitoquímicos realizados estão representados na tabela 1.

Tabela 1. Ensaio fitoquímico com o Extrato Bruto Etanólico de *P. peltatum* (EBEPp)

Teste	Resultado
Saponinas	Presente
Ácidos orgânicos	Ausente
Polissacarídeos	Ausente
Açúcares redutores	Presente
Fenóis e Taninos	Presente
Purinas	Ausente
Alcalóides	Presente
Flavonóides	Ausente
Resinas	Presente
Proteínas e aminoácidos	Presente
Antraquinonas	Ausente
Esteróides e triterpenóides	Presente

Fonte: autor (2016).

### 3.2 TOXICIDADE AGUDA (OECD 423/2001)

O teste de toxicidade aguda foi iniciado com a dose de 2000 mg/kg e embora o protocolo OECD 423/2001 não requeira um grupo controle (G1), os animais receberam por via oral tween 20% (veículo) e foram incluídos na experiência, a fim de obter maiores informação para os testes. Nenhum dos três primeiros animais tratados com a dose 2000 mg/kg (G2) morreram ou apresentaram qualquer sinal de morbidade durante os 14 dias de estudo. E o teste sendo repetido (G3), a dose de 2000 mg/kg, não ocasionou a morte de nenhum animal. Portanto, o valor da DL<sub>50</sub> pode ser considerado como sendo superior a 2000 mg/kg.

#### 3.2.1 *Screening* hipocrático

Durante o experimento de toxicidade aguda nenhum animal do grupo G1 demonstrou mudanças comportamentais anormais. Os grupos apresentaram irritabilidade (escore 0-2), resposta ao toque (escore 0-3), resposta ao aperto (escore 0-4), resposta ao aperto da cauda (escore 0-3), reflexos auriculares (escore 2-3) e piloereção (escore 1-3) nas primeiras 24 horas, e alguns permanecendo alterados durante os 14

dias de observação. Tais resultados alterados também foram observados no grupo controle, concluindo que essa resposta não foi por conta de alguma atividade proveniente do (EBEPp) (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito da administração aguda (v.o) do EBEPp (2000 mg/kg) sobre o *screening* hipocrático de ratos fêmeas, linhagem Wistar.

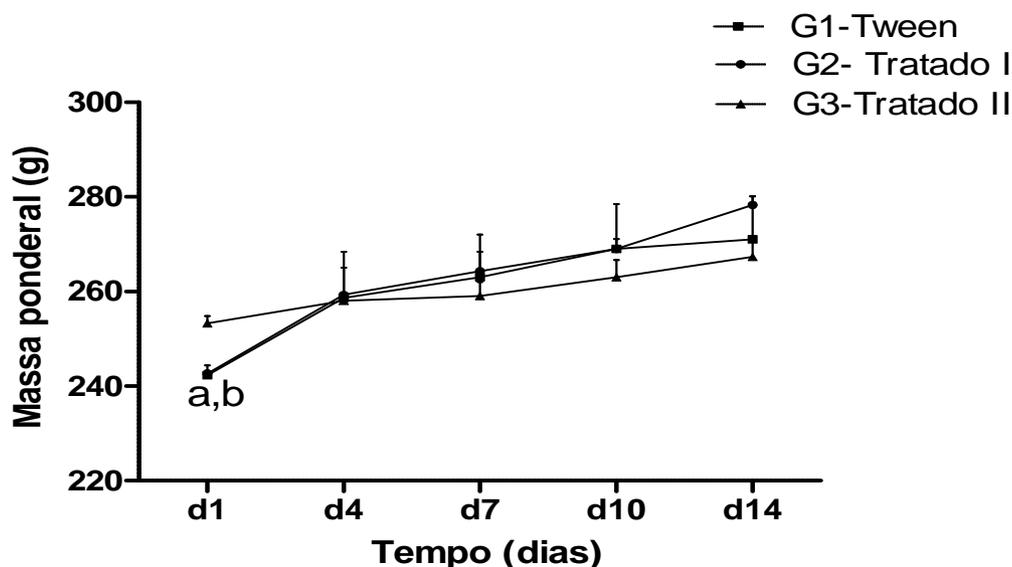
Parâmetros avaliados	Grupo n=3	Teste (horas)					Teste (dias)				
		0	1	2	4	6	24	3	7	10	14
Irritação	Controle (G1)	0	2	2	1	1	1	1	1	0	0
	Tratado I (G2)	0	2	2	1	1	1	0	0	1	0
	Tratado II (G3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Resposta ao toque	Controle (G1)	0	2	2	2	1	1	1	1	0	1
	Tratado I (G2)	0	3	2	1	1	1	0	1	0	0
	Tratado II (G3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Resposta ao aperto	Controle (G1)	0	3	2	3	1	2	1	1	2	1
	Tratado I (G2)	0	4	1	2	0	1	0	0	0	0
	Tratado II (G3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Aperto da Cauda	Controle (G1)	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1
	Tratado I (G2)	0	3	0	3	0	0	0	1	1	0
	Tratado II (G3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Auricular	Controle (G1)	0	3	2	2	2	2	2	2	2	2
	Tratado I (G2)	0	3	3	2	2	2	3	2	2	2
	Tratado II (G3)	0	3	2	2	2	2	2	2	2	3
Piloereção	Controle (G1)	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2
	Tratado I (G2)	0	2	2	2	2	2	1	1	2	2
	Tratado II (G3)	0	3	2	1	1	1	2	3	3	2

Parâmetros com *score*: ausente=0, raro=1, pouco=2, moderado=3 e intenso=4.

### 3.2.2 Desenvolvimento Ponderal

Os animais foram pesados antes da administração da substância em estudo e então diariamente durante os 14 dias de observação. Houve diferença estatística no desenvolvimento ponderal dos animais no primeiro dia de análise, isto devido apenas a diferença de massa ponderal dos animais, não sendo verificada diferença entre os grupos durante os demais dias, demonstrando que o EBEPp não influencia neste parâmetro (Figura 2).

Figura 2. Efeito do tratamento por via oral do grupo controle com Tween 20% (G1) e grupos tratados com E-BEPp 2000 mg/kg (G2 e G3) sobre o desenvolvimento ponderal (g) de ratos fêmeas observadas por 14 dias. Os pontos representam a média  $\pm$  E.P.M e valores com  $p < 0,05$  estão indicados pelos índices <sup>a</sup> (em relação ao G1) e <sup>b</sup> (G3 em relação ao G2). Foi aplicado Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de tukey ( $n = 3/\text{grupo}$ ).

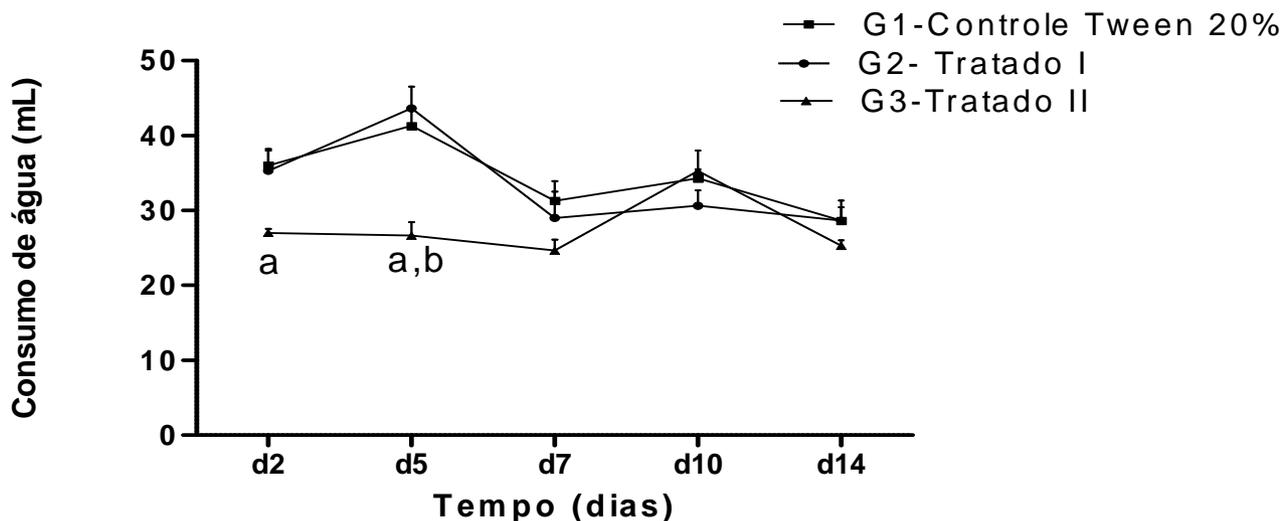


Fonte: (AUTOR, 2016).

### 3.2.3 Consumo de água e ração

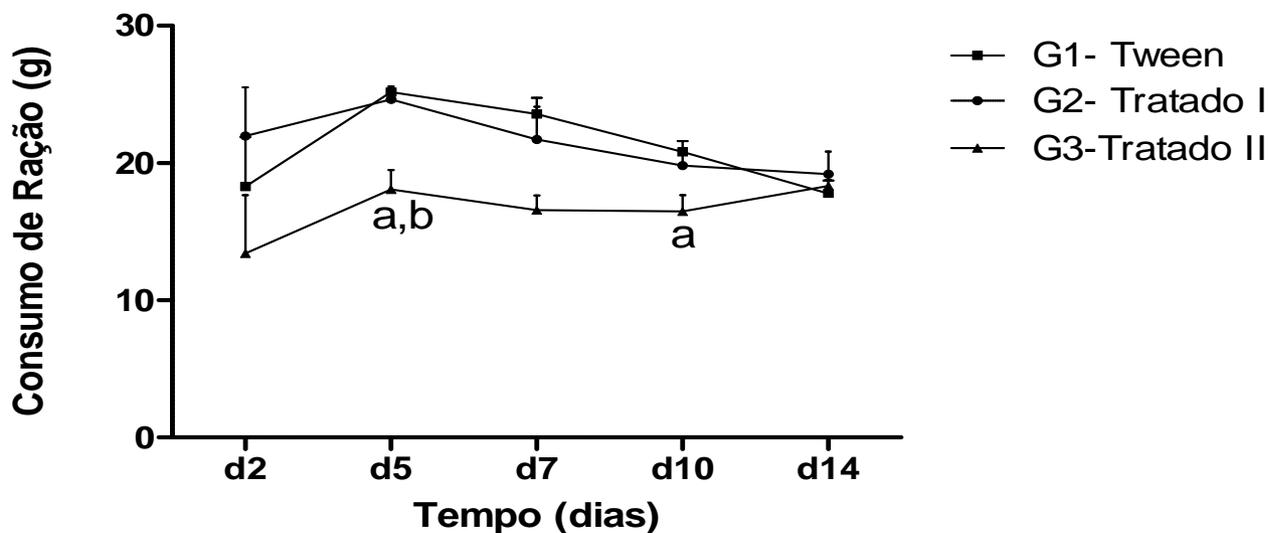
Diariamente foi avaliado o consumo de água e ração, durante os quatorze (d14) dias. Estes parâmetros foram significantes no segundo, quinto e no décimo dia (d2, d5 e d10), porém, essas variações não interferiram na saúde e no estado geral dos animais. No entanto, em relação a ingestão de água, houve diferença estatística no dia 2 (d2) entre o grupo tratados II em relação ao controle (G1 vs G3<sup>a</sup>), e no dia 5 (d5), permanecendo o mesmo grupo (tratado II), com diferença estatística (G1 vs G3<sup>a</sup> e G2 vs G3<sup>b</sup>) (Figura 3). E no consumo de ração no tratado II em relação ao grupo controle e ao tratado I (G1 vs G3<sup>a</sup> e G2 vs G3<sup>b</sup>) (Figura 4).

Figura 3. Efeito do tratamento por via oral com Tween 20% 1,0 mL/ animal (G1) e EBEPp 2000 mg/kg (Tratados G2 e G3) sobre o consumo de água (mL) de ratos fêmeas observadas por 14 dias. Os pontos representam a média  $\pm$  E.P.M e valores com  $p < 0,05$  estão indicados pelos índices a (em relação ao G1) e b (G3 em relação ao G2). Foi aplicado Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de tukey ( $n = 3/\text{grupo}$ ).



Fonte: (AUTOR, 2016).

Figura 4. Efeito do tratamento por via oral com Tween 20% 1,0 mL/ animal (G1) e EBEPp 2000 mg/kg (Tratados G2 e G3) sobre o consumo de ração (g) de ratos fêmeas observadas por 14 dias. Os pontos representam a média  $\pm$  E.P.M e valores com  $p < 0,05$  estão indicados pelos índices a (em relação ao G1) e b (G3 em relação ao G2). Foi aplicado Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de tukey ( $n = 3/\text{grupo}$ ).



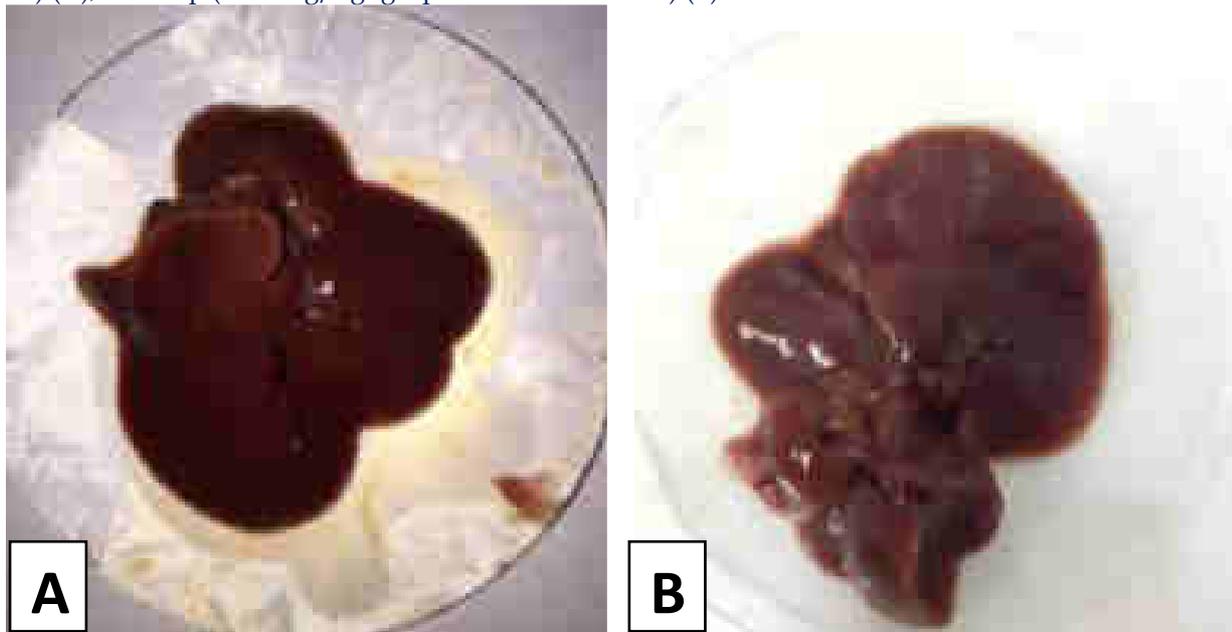
Fonte: (AUTOR, 2016).

### 3.2.4 Análise macroscópica dos órgãos

No 14º dia após o tratamento (Dpt14), realizou-se a eutanásia, sendo então coletados o fígado (Figura 5), baço (Figura 6), coração (Figura 7), rins (Figura 8), pulmão

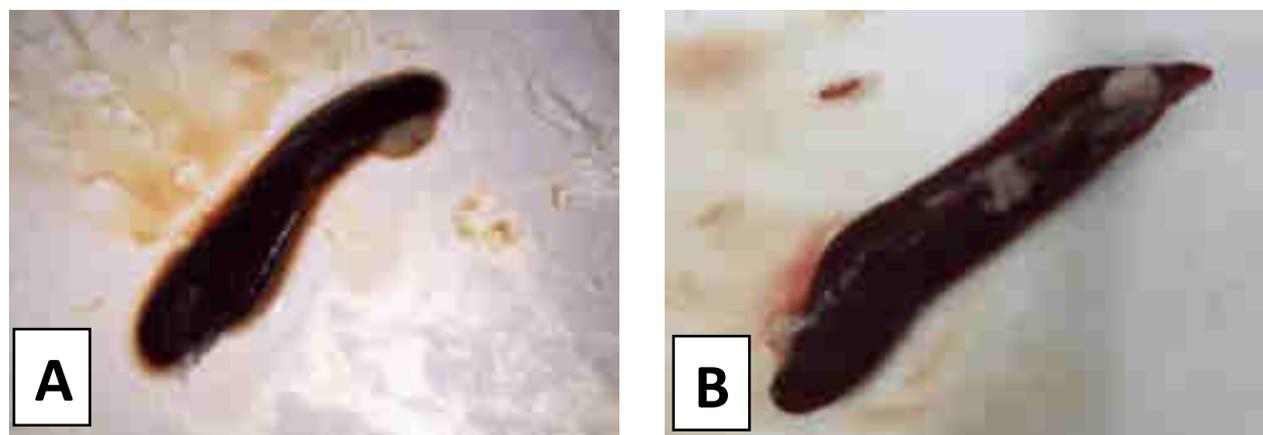
(Figura 9) e cérebro (Figura 10) dos animais tratados, assim como do grupo controle e estes foram analisados macroscopicamente, não apresentando quaisquer alterações anormais.

Figura 5. Aspecto macroscópico do fígado de Ratos (fêmeas) que receberam Tween 20% (1,0 mL- grupo controle G1) (A), e EBEPp (2000 mg/kg- grupos tratados G2 e G3) (B).



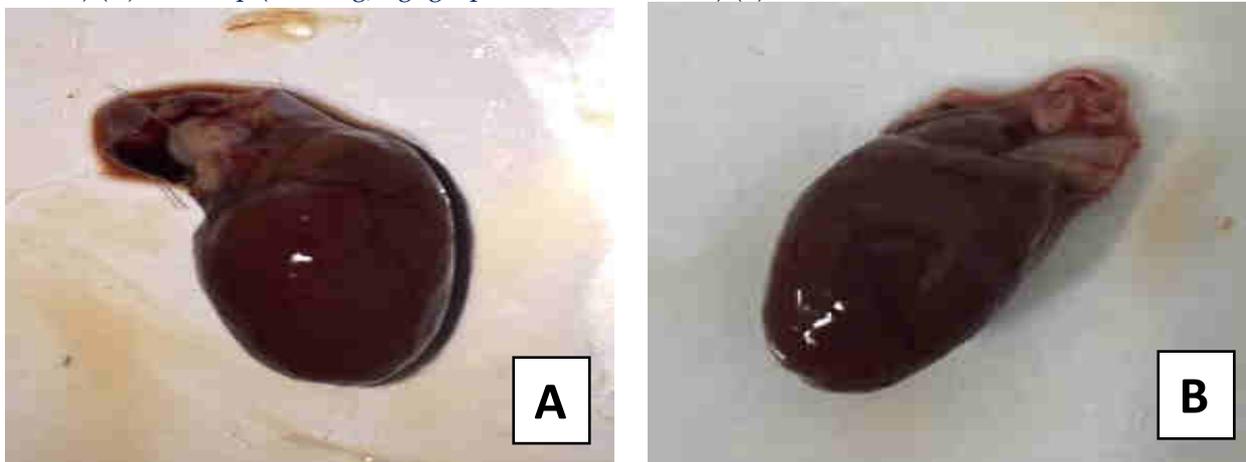
Fonte: (AUTOR, 2016).

Figura 6. Aspecto macroscópico do baço de Ratos (fêmeas) que receberam Tween 20% (1,0 mL- grupo controle G1) (A), e EBEPp(2000 mg/kg- grupos tratados G2 e G3) (B).



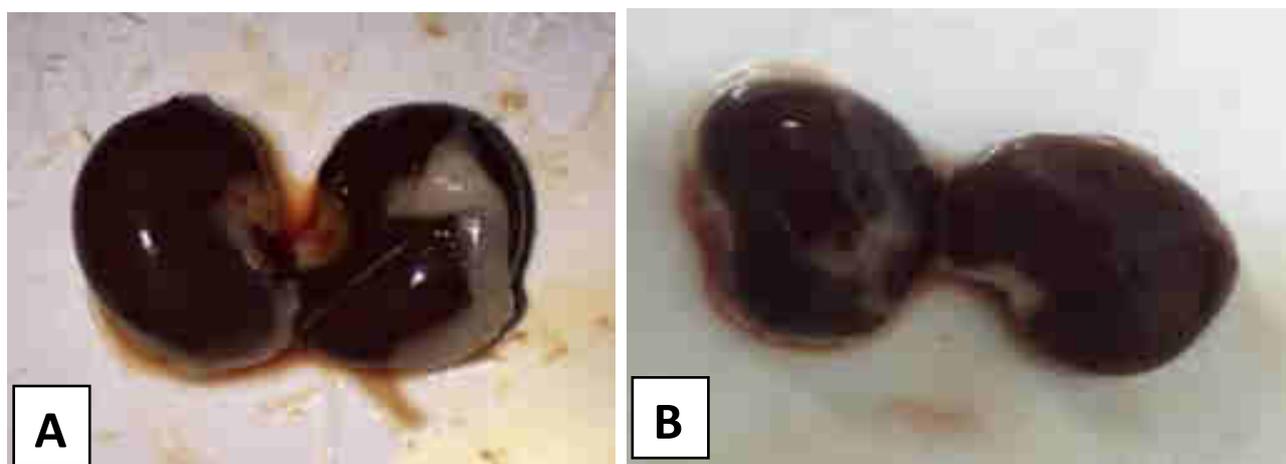
Fonte: (AUTOR, 2016).

Figura 7. Aspecto macroscópico do coração de Ratos (fêmeas) que receberam Tween 20% (1,0 mL- grupo controle G1) (A), e EBEPp (2000 mg/kg- grupos tratados G2 e G3) (B).



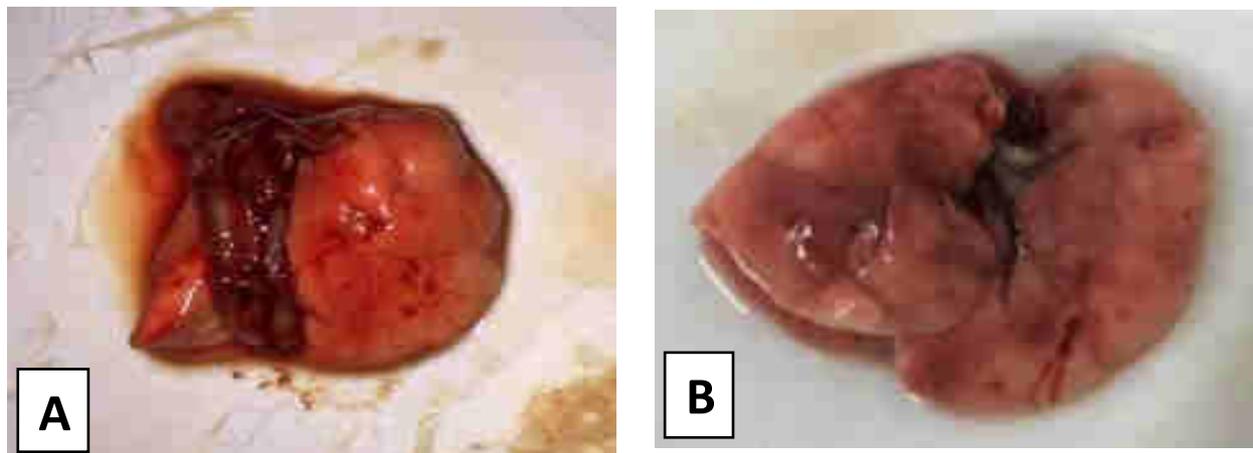
Fonte: (AUTOR, 2016)

Figura 8. Aspecto macroscópico dos rins de Ratos (fêmeas) que receberam Tween 20% (1,0 mL- grupo controle G1) (A), e EBEPp (2000 mg/kg- grupos tratados G2 e G3) (B).



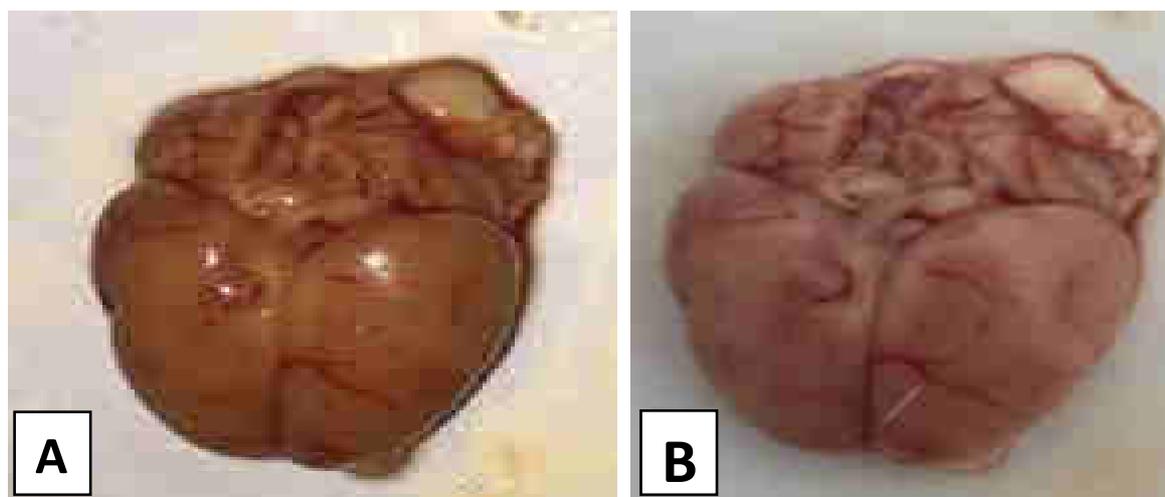
Fonte: (AUTOR, 2016).

Figura 9. Aspecto macroscópico do pulmão de Ratos (fêmeas) que receberam Tween 20% (1,0 mL- grupo controle G1) (A), e EBEPp (2000 mg/kg- grupos tratados G2 e G3) (B).



Fonte: (AUTOR,2016).

Figura 10. Aspecto macroscópico do cérebro de Ratos (fêmeas) que receberam Tween 20% (1.0 mL- grupo controle G1) (A), e EBEPp (2000 mg/kg- grupos tratados G2 e G3) (B).



Fonte: (AUTOR, 2016)

### 3.2.5 Avaliação do peso absoluto e relativo dos órgãos

A avaliação da massa dos órgãos é importante, pois o fígado e os rins são responsáveis pelo metabolismo e eliminação de substâncias e em casos de intoxicação podem ter a massa aumentada ou diminuída (MELLO, 2007). Não foi observado diferença significativa quanto ao peso do baço, cérebro, coração, fígado, pulmão e rins entre o grupo controle (G1) e tratados (G2 e G3) na dose de 2000 mg/kg, demonstrando que nenhum dos órgãos citados foi alterado pelo tratamento com EBEPp (Tabela 3).

Tabela 3. Média  $\pm$  erro padrão da média do peso absoluto e relativo dos órgãos de ratos (fêmea). O grupo controle (G1) recebeu Tween (1,0 mL/animal) e os tratados receberam EBEPp 2000 mg/kg (G2 e G3).

Órgãos	Peso Absoluto			Peso Relativo		
	Tween G1 (n=3)	Tratado I G2 (n=3)	Tratado II G3 (n=3)	Tween G1 (n=3)	Tratado I G2 (n=3)	Tratado II G3 (n=3)
Baço	0.83 $\pm$ 0.08	0.87 $\pm$ 0.03	0.80 $\pm$ 0.07	0.32 $\pm$ 0.01	0.3 $\pm$ 0.02	0.30 $\pm$ 0.02
Cérebro	1.74 $\pm$ 0.13	1.55 $\pm$ 0.13	1.82 $\pm$ 0.04	0.57 $\pm$ 0.03	0.62 $\pm$ 0.04	0.68 $\pm$ 0.02
Coração	0.96 $\pm$ 0.06	1.06 $\pm$ 0.02	0.98 $\pm$ 0.04	0.39 $\pm$ 0.00	0.34 $\pm$ 0.02	0.37 $\pm$ 0.01
Fígado	11.84 $\pm$ 0.68	11.10 $\pm$ 0.12	11.91 $\pm$ 0.07	4.10 $\pm$ 0.16	4.25 $\pm$ 0.21	4.45 $\pm$ 0.06
Pulmão	2.08 $\pm$ 0.0.32	1.93 $\pm$ 0.08	1.77 $\pm$ 0.08	0.71 $\pm$ 0.02	1.10 $\pm$ 0.44	0.66 $\pm$ 0.02
Rins	2.24 $\pm$ 0.16	2.27 $\pm$ 0.06	2.13 $\pm$ 0.03	0.84 $\pm$ 0.03	0.80 $\pm$ 0.05	0.79 $\pm$ 0.02

Fonte: (AUTOR, 2016).

## 4. DISCUSSÃO

Nos testes com a respectiva espécie, o teste para saponinas foi positivo com a formação e persistência de espuma na fração aquosa obtida do extrato. As saponinas são compostos glicosilados, bipolares, anfifílicas e conhecidas por apresentarem propriedades tensoativas. Possuem a capacidade de se complexar com fosfolipídios e proteínas de membranas, causando desorganização e alterações na sua permeabilidade, auxiliando ou destruindo, apresentando uma propriedade tóxica. As principais atividades apresentadas por plantas que possuem saponinas são: anti-inflamatória, larvicida, hipocolesterolemiantes, moluscicida, expectorante e ventrópica (RODRIGUES et al., 2010).

Fenóis podem estar ligados a açúcares e tendem a se solubilizar em água, se oxidam em pH alcalino, são instáveis, dentre suas atividades farmacológicas podemos citar anti-séptica, anti-inflamatória e podem inibir atividade enzimática (COSTA, 2013). Muitos constituem óleos voláteis, sendo usados muito em aromatizantes, possuem também atividade antioxidante e ação expectorante, explicando seu uso no tratamento em problemas respiratórios (MEIRA-NETO; ALMEIDA, 2015). Esses metabólitos com propriedades anti-inflamatórias explicam sua eficácia no tratamento contra dores e inflamações nas comunidades (VÁSQUEZ, 2014).

Taninos são substâncias que se associam e se combinam com proteínas e certos polióis. É obtido principalmente das cascas, que contém os maiores teores dessa substância (SARTORI et al., 2014). Os taninos têm sido frequentemente utilizados para combater à diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas renais e processos inflamatórios (COSTA, 2013). Essa substância tem a ação de proteger o vegetal contra o ataque de formigas, cupins e microrganismos, quando ingerida, na boca apresenta uma sensação travosa por conta da precipitação de proteínas na mucosa (JORGE, 2009).

Marcon (2013) descreve o uso tradicional da *P. peltatum* para o tratamento de infecções de pele, ferimentos, picadas de insetos, doenças de pele causadas por fungos.

E que tais ações podem ser associadas as ações causadas por taninos.

As resinas são produzidas pelas plantas com intuito de agirem como proteção contra bactérias, fungos e insetos que se internalizam na casca e alcançam o cerne das árvores e consentem a eliminação de acetatos desnecessários (FREITAS; SANTOS; MOREIRA, 2013).

Os açúcares redutores apresentam aspectos ligados a radiação solar, por isso as plantas em maior exposição ao sol têm maiores teores de açúcares, assim como as que estão sujeitas a estresse hídrico (DUARTE; MOTA e ALMEIDA, 2014).

Alcaloides são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos, em sua grande parte possui caráter alcalino, podem ser encontrados em todas as partes do vegetal, principalmente presente nas angiospermas. Nas plantas possuem atividades tóxicas, agindo na defesa contra a invasão de microrganismos e vírus, bem como na proteção contra irradiação UV. Em empregos farmacêuticos podemos citar seu uso como antitumorais, antimaláricos, anti-hipertensivos, antitussígenos, diuréticos, estimulante do sistema nervoso central, entre outros (HENRIQUES; ALMEIDA, 2013). Assim podemos associar seu uso contra doenças hepáticas e distúrbios renais e das vias urinárias (MESSIAS; et al., 2015).

Marcon (2013) cita teste fitoquímico realizado com a *P. peltatum* onde igualmente apresentaram resultado positivo para o metabólito secundário alcaloide, e resultados antitumorais promissores contra câncer de mama, de cólon, leucemia e melanoma. Outros resultados obtidos por Neto e colaboradores (2007) mostram que os alcaloides são compostos muito interessantes para o desenvolvimento de fármacos, a investigação de atividades antiplasmódicas provenientes de alcaloides monoterpênicos obtiveram resultados muito satisfatórios.

Os esteroides e triterpenoides são caracterizados por apresentar diversas ações farmacológicas, sendo as principais a anti-inflamatória, analgésica e inseticida (HENRIQUES; ALMEIDA, 2013). Os esteróides vegetais são compostos com 28 ou 29 carbonos, diferindo do colesterol (27 carbonos) pela presença de uma ramificação metila ou

etila adicional na cadeia carbônica. Dentre os efeitos dos esteroides vegetais, são reconhecidas suas propriedades hipocolesterolêmicas. Dentre seus benefícios à saúde humana destaca-se a redução da absorção do colesterol da dieta, com consequente redução dos níveis sanguíneos; a redução do risco de doenças cardiovasculares; e inibição do crescimento de certos tipos de tumores malignos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Camargo et al. (2008) também aponta em seu estudo a presença de alguns metabólitos secundários, dentre eles os esteroides, na qual é um dos responsáveis pelas ações contra inflamações, dentre outras. Rodrigues, Duarte-Almeida e Pires (2010) relatam em seu trabalho o uso popular por comunidades caboclas da planta como anti-inflamatória e analgésica.

Os triterpenos apresentam diversas atividades biológicas, entre as quais se destacam cardioprotetora, gastroprotetora, anti-inflamatória, antitumoral, leishmanicida e anti-hiperglicêmica (CURSINO, et al., 2009). Essas ações farmacológicas são citadas em estudos desenvolvido por Schwertner et al. (2008) onde ele mostra atividades significantes contra inflamações, dores hepáticas e úlceras. E ainda atividades antimaláricas, citotoxicidade contra células tumorais em proliferação, e inibição do vírus HIV-I.

Em estudo, Pinto (2006) reforça todas as ações para qual é usada a *P. peltatum* no tratamento na medicina popular, e essas mais variadas indicações são graças aos efeitos provenientes desses metabólitos no qual obtiveram resultados positivos nos testes realizados no presente estudo.

Estudos de ensaios de toxicidade aguda realizados com a *P. peltatum* não foram encontrados na literatura, entretanto, foi encontrado um ensaio realizado por Barros e colaboradores (2005) de toxicidade aguda e subcrônica com a planta *Pothomorphe umbellata* L. (Miq) que pertence ao mesmo gênero e recebe seu mesmo nome popular (Capeba). Possui o mesmo composto marcador da espécie e semelhante a este estudo, Barros et al., não obteve também quaisquer sinais clínicos de toxicidade imediatamente, não havendo nenhum óbito.

Em outro estudo, Silva et al. (2015) realizaram o teste da toxicidade aguda, po-

rém, utilizando derivados de 4-nerolidilcatecol. Descrito como o principal composto presente na *P. peltatum*, sendo o composto marcador da espécie e é responsável por várias propriedades farmacológicas da planta, dentre elas a atividade contra os parasitadas *Plasmodium*, causadores da malária. Neste trabalho não houve nenhuma morte ou quais sinais de toxicidade ao longo de todo o ensaio.

## 5. CONCLUSÃO

Através dos resultados adquiridos no presente estudo, pode-se concluir que o EBEPp se enquadrou na categoria 5, possuindo uma toxicidade letal aguda maior que 2000 mg/kg e não exibiu risco toxicológico agudo. A administração da dose de 1 ml do tween 20% alterou alguns parâmetros comportamentais observados na análise do *screening*/ hipocrático do grupo controle em relação ao tratado, não atribuindo tais alterações como efeitos adversos do EBEPp.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, W. L. R. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém, 2001.
- BARROS, S. et al. Assessment of acute and subchronic oral toxicity of ethanolic extract of *Pothomorphe umbellata* L. Miq (Pariparoba). Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 41, n. 1, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Brasília, versão-2, 31 de janeiro de 2013. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em: 08 de junho de 2015.
- CAMARGO, J. V. S. et al.. Produção de Biomassa (Folhas, Caules, Raízes e Inflorescências), Relação Folha/Caule e Rendimento de 4-Nerolidilcatecol de *Pothomorphe peltata* Miq., em Função de Espaçamentos, nas Condições de Manaus – AM. Anais da III Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental. 2008.
- CASTRO HG; FERREIRA FA. Contribuição ao estudo das plantas medicinais: carqueja (*Baccharis genistelloides*). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa., p.102, 2000.
- COSTA, E.V.M. Estudo etnobotânico sobre plantas utilizadas como antimaláricas no

- Estado do Amapá e avaliação da atividade antimalárica e toxicidade aguda de *Amasonia campestris* (Aubl.) Moldenke. Tese (Doutorado) – Fundação Universidade Federal do Amapá. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical - PPGBIO, 2013.
- CURSINO, L. M. C.; et al.. Triterpenos das folhas de *Minquartia guianensis* Aubl. (O-lacaceae). Acta Amaz. Manaus, 2009.
- DUARTE, J. L.; MOTA, L. J. T.; ALMEIDA, S. S. M. S.; Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Ipê Amarelo). Estação Científica (UNIFAP). Macapá, 2014.
- FREITAS, N. M.; SANTOS, A. M. C. M.; MOREIRA, L. R. M. O. Avaliação fitoquímica e determinação de minerais em amostras de *Hibiscus sabdariffa* L (vinagreira). Cad. Pesq., São Luís, 2013.
- HENRIQUES, S. V. C.; ALMEIDA, S. S. M. S. Identificação do caráter medicinal da espécie *Curatella americana* por meio das folhas. Estação Científica (UNIFAP). Macapá, 2013.
- JORGE, S. S. A. Plantas medicinais - coletânea de saberes. 2009.
- MARCON, E. L. Fungos endofíticos de *Piper peltatum* e *Peperomia pellucida*: caracterização, metabolitos secundários e atividades biológicas. Tese (Doutorado em Química). Manaus: UFAM, 2013.
- MATOS, F. J. A. Introdução a fitoquímica experimental. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, p.141, 1997.
- MEIRA-NETO, R. A.; ALMEIDA, S. S. M. S. Avaliação fitoquímica, microbiológica e citotóxica das folhas de *Gossypium arboreum* L. (Malvaceae). Biota Amazônia. Macapá, 2015.
- MESSIAS, M.C.T.B. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. Rev. bras. plantas med.. Botucatu, 2015.
- MÜLBERGUER, N. Epidemiology and clinical features of vevax malaria imported to Europe: Sentinel surveillance data from TropNetEurop. Malaria Journal., disponível em <http://www.malariajournal.com/content/3/1/5>, 2004.
- NETO, V. F. A. et al. Inibição in vitro de *Plasmodium falciparum* por substâncias isoladas a partir de plantas antimaláricos amazônicos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. vol.102 no.3 Rio de Janeiro, 2007.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G.. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. J. Biotec. Biodivers. Nov. 2012.

- PINTO, A. C. S. et al. *In vitro* cytotoxicity of *Pothomorphe peltata* (L.) Miquel (Piperaceae), isolated 4-nerolidylcatechol and its semi-synthetic diacetyl derivative. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.8, p.205-211, 2006.
- RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PIRES, J. M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte I. Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn. 2010.
- RODRIGUES, K. A. F.; et al.. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de momordica charantia l\*. Cad. Pesq., São Luís, 2010.
- SANTOS, S. Um estudo etnoecológico dos quintais da cidade de Alta Floresta - MT. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, p.165, 2004.
- ARTORI, C. J.; MORI, F. A.; VALLE, M. L. A.; MENDES, L. M.; PROTÁSIO, T. P. Rendimento gravimétrico em taninos condensados nas cascas de *Anadenanthera peregrina* em diferentes classes diamétricas. Cerne, Lavras, abr./jun. 2014.
- SCHWERTNER, A.B.S. et al. Efeito do 6- benzilaminopurina (BAP) e do ácido indolacético (AIA) na propagação *in vitro* da caapeba [*Pothomorphe peltata* (L.) Miq.]. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.10, n.1, 2008.
- SILVA, L. F. R. et al. *In Vivo* Antimalarial Activity and Mechanisms of Action of 4-Nerolidylcatechol Derivative. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 59, 2015.
- SILVA, R. B. L. A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade quilombola de Curiaú, Macapá- AP, Brasil. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal Rural da Amazônia, Manaus, p.172, 2002.
- SUÁREZ-MUTTIS, M. C.; COURA, J. R. Mudanças no padrão epidemiológico da malária em área rural do médio rio Negro, Amazônia brasileira: análise retrospectiva. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, RJ, v. 23, n. 4, p.785-804, 2007.
- SVS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim eletrônico epidemiológico. Ano 10, n. 4, dez. 2010.
- VÁSQUEZ, S. P. F. Conhecimento, uso e conservação da diversidade vegetal em quatro comunidades ribeirinhas no município Manacapuru, Amazonas. Tese (Pós-Graduação em Botânica). Manaus: INPA, 2014.
- WHO. Global report antimalarial drug efficacy and drug resistance. 2000-2010. World Health Organisation, Geneve: WHO. 2010

# AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO DE COPAIFERA OFFICINALIS (COPAÍBA) FRENTE À PERIPLANETA AMERICANA (BARATA DOMÉSTICA)

Letícia de Oliveira Machado<sup>1</sup>

Madson Ralide Fonseca Gomes<sup>2</sup>

**RESUMO:** A Copaíba (Leguminosae), é uma árvore pertencente à família Caesalpinaceae do gênero *Copaifera* sp, apresenta de 25 a 40 metros de altura chegando até 4 metros de diâmetro sendo nativa da América Latina e África Ocidental, com grande incidência no Brasil. Suas variedades produzem uma resina amplamente conhecida por óleo de copaíba, que é extraída do tronco da árvore. O óleo de copaíba é encontrado na região amazônica, sendo utilizado pelos povos indígenas como repelente de insetos. Pertencentes à ordem Dictyoptera, as baratas são umas das pragas urbanas mais conhecidas e causadoras de repulsa nos seres humanos. Por ter uma alta adaptabilidade, capacidade reprodutiva e a abundância de abrigos e alimentos encontrados nas áreas urbanas, as várias espécies de baratas se proliferam facilmente e com rapidez, causando grande incomodo em todos os níveis sociais. Esse estudo procurou avaliar o potencial inseticida da *Copaifera officinalis* frente à *Periplaneta americana* utilizando a oleorresina da planta. Foram observadas as cinco ninfas nas primeiras quatro horas de teste e a sua atração para o controle ou para o papel tratado na placa foi avaliado periodicamente por análise do seu deslocamento para uma porção ou o outra, os testes foram realizados em triplicata com três diferentes concentrações e foram comparadas pelo teste de análise de variância (ANOVA) e Tukey, a significância foi aceita quando  $p < 0,05$ . (STATISTICA 6.0).

**Palavras-chave:** *Copaifera officinalis*, Repelência, Óleo, *Periplaneta americana*, Inseticida.

## 1 INTRODUÇÃO

**A** Copaíba (Leguminosae), é uma árvore pertencente à família Caesalpinaceae do gênero *Copaifera* sp, apresenta de 25 a 40 metros de altura chegando até 4 metros de diâmetro sendo nativa da América Latina e África Ocidental, com grande incidência no Brasil e distribuída pela floresta amazônica (FRANCISCO, 2005, ARAÚJO JÚNIOR et al., 2005). Suas variedades produzem uma resina amplamente conhecida por óleo de copaíba, que é extraída do tronco da árvore, sendo constituída de ácidos resinosos e compostos voláteis (LORENZI, 1992, VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

O óleo de copaíba é encontrado na região amazônica, sendo utilizado pelos po-

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientador de iniciação científica. Professor do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

vos indígenas como repelente de insetos (FREIRE et al.; 2006).

Pertencentes à ordem Dictyoptera, as baratas são umas das pragas urbanas mais conhecidas e causadoras de repulsa nos seres humanos. Estão presentes no planeta Terra aproximadamente a 400 milhões de anos, com poucas mudanças evolutivas, e até o momento cerca de 3500 espécies são conhecidas, porém apenas 1% habita áreas urbanas. As espécies mais nocivas ao homem, frequentemente encontradas em áreas domiciliares são: *Periplaneta americana* (barata americana), *Blattella germanica* (barata alemã), *Blatta orientalis* (barata oriental) e *Periplaneta australasiae* (barata australiana). Por ter uma alta adaptabilidade, capacidade reprodutiva e a abundância de abrigos e alimentos encontrados nas áreas urbanas, as várias espécies de baratas se proliferam facilmente e com rapidez, causando grande incomodo em todos os níveis sociais. Além disso, é carreadora de microrganismos patógenos, tanto de forma mecânica quanto biologicamente, a sua presença em áreas residenciais, hospitalares, escolas e restaurantes tornando-se um fator de risco preocupante (ZORZENON, 2002).

As espécies *Periplaneta americana* (barata americana ou de esgoto) e *Blattella germanica* (baratinha alemã), são as mais comuns, e conseqüentemente, as de maior importância (ZORZENON, 2002).

Segundo Rodrigues (2014), as baratas depositam suas ootecas em locais seguros, e com fontes de alimento, como em ralos, rodapés, rachaduras, frestas e caixas de gordura. Esses locais devem ser inspecionados regularmente para avaliação do grau de infestação.

Muitas doenças são ocasionadas por esses insetos e os organismos patógenos que os mesmos carregam. Segundo Potenza et al. (2004), as baratas são responsáveis, em alguns casos, por aumentar de forma exacerbada processos alérgicos e de asma, devido alérgenos provenientes de suas fezes, saliva e exoesqueleto, que ficam dispersos no ar.

As baratas são vetores mecânicos de patógenos importantes nas infecções hospitalares. Reys (2003) afirma que esses insetos podem veicular doenças dentro de am-

bientes hospitalares de duas maneiras. As baratas se alimentam de escarro, secreções e outros produtos biológicos contaminados dos pacientes, assim, as partes externas das baratas ao entrarem em contato com esse material ficam contaminadas. Enquanto procuram mais alimento, elas carregam esses microrganismos, e através de suas fezes depositam-nos em vários lugares. Elas também podem regurgitar o alimento contaminado, transmitindo esses patógenos infecciosos. Também veiculam patógenos entrando em contato com a comida dos pacientes, ao roerem os lábios e pontas dos dedos sujos de pessoas, ou entrando em contato com materiais cirúrgicos e pós-cirúrgicos.

Lopes (2005) afirma que, “as Baratas são de grande importância médica por estarem simultaneamente associadas ao ambiente de vida do homem e a locais contaminados por microrganismos patogênicos ao homem e a outros animais”.

A maioria dos inseticidas comercializados atualmente tem um alto grau de toxicidade para o homem, sendo comuns acidentes domésticos envolvendo esse tipo de produto. A importância da pesquisa com plantas que contenham propriedades inseticidas surge dessa necessidade de acabar com pragas urbanas sem que haja grande toxicidade para o homem.

Adler et al. (1987) utilizaram uma formulação de uso comercial a base de extratos de sementes de nim, verificando a atividade inseticida, repelente e inibidora de crescimento contra *Blattella germanica* e *Periplaneta americana*.

Esse estudo procurou avaliar o potencial inseticida da *Copaifera officinalis* frente à *Periplaneta americana* utilizando o óleo da planta.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 ANIMAIS

Os animais utilizados na execução do projeto da espécie *Periplaneta americana* (barata doméstica) foram reproduzidos e criados no Laboratório de Toxicologia do

curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá - UNIFAP coordenado pela Profa. Mayara Teles.

## 2.2 OBTENÇÃO DO ÓLEO

A amostra de *Copaifera Officinalis* (Lote L091) foi adquirida da Empresa J.R.D Indústria Farmacêutica LTDA- (Uniphar®), Anápolis-Goiás, Brasil.

## 2.3 PREPARO DA AMOSTRA PARA ANÁLISE EM CG-MS

A amostra do OR foi filtradas em membrana filtrante Millepore 0.45  $\mu\text{m}$  e posteriormente alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  foram diluídas em 2 mL hexano e analisadas em CG-MS.

## 2.4 ANÁLISES DOS ORS POR CG-MS.

As análises foram realizadas em Cromatógrafo 6850 gasoso acoplado a espectrômetro de massas 5973 e injetor automático de 7683B, marca Agilet (EQ-147), as condições cromatográficas foram: coluna capilar Rtx-5 (30 m x 0,25 mmID x 0,25  $\mu\text{m}$ ); Hélio como gás de arraste com fluxo de 1,5 mL/min, a temperatura do forno foi programada mantendo-se 120 °C por 2 min e seguido de aumento de 3 °C/min até 160 °C mantido por 2 min e seguido de aumento de 8 °C/min até a temperatura final de 290°C mantida por 2 minutos; temperatura do injetor 270 °C; temperatura do detector de 290 °C; injetado um volume de 1,0  $\mu\text{L}$  em razão de split de 20:1. Detector de massas operando em modo Scan 40-400 ( $m/z$ ) com impacto eletrônico de 70 eV. Para identificação dos compostos, Utilizou-se o espectro de fragmentação dos picos com similaridade acima de 90% comparada aos da biblioteca Nist do equipamento (Carvalho et al., 2015).

## 2.5 TESTES *IN VIVO*

Este teste foi baseado no método proposto por McDonald et al. (1970). Foram

realizados testes de repelência com três concentrações diferentes de óleo de *Copaifera officinalis*, 500 µg/mL, 250 µg/mL e 125 µg/mL a observar a concentração eficaz (valor limite) mínima.

Nesse teste foi colocado em metade de um disco de papel de filtro de 9 cm de diâmetro 2 mL de éter etílico PA (controle) e na outra metade 2 mL da solução contendo óleorresina de *Copaifera Officinalis*, o solvente foi evaporado à temperatura ambiente. Os discos de papel de filtro foram colocados dentro de placas de Petri com 5 ninfas da espécie *Periplaneta americana* e foi observado o potencial de repelência da óleorresina. Cada tratamento foi realizado em triplicata.

Foram observadas as 5 ninfas nas primeiras quatro horas de teste e a sua atração para o controle ou para o papel tratado na placa foi avaliado periodicamente por análise do seu deslocamento para uma porção ou o outro.

A partir dos dados gravados no teste, O índice de preferência (IP) citado por Procópio et al. (2003) foi calculado:

$$IP = (\%IPT - \%IC) / (\%IPT + \%IC)$$

Onde, %IPT = % de insetos no papel de teste, %IC = % de insetos no papel de controle.

O índice foi classificado como segue: IP: de -1,00 a -0,10 significa óleo repelente, -0,10 a +0,10 significa óleo neutro e de +0,10 a +1,00 significa óleo atraente.

## 2.6 TESTES ESTATÍSTICOS

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e foram comparadas pelo teste de análise de variância (ANOVA) e Tukey, a significância foi aceita quando  $p < 0,05$  (STATISTICA 6.0).

## 3 RESULTADOS

A amostra de *Copaifera officinalis* (Lote L091) adquirida da Empresa J. R. D Indústria Farmacêutica LTDA - (Uniphar®), tem sua composição química apresentada

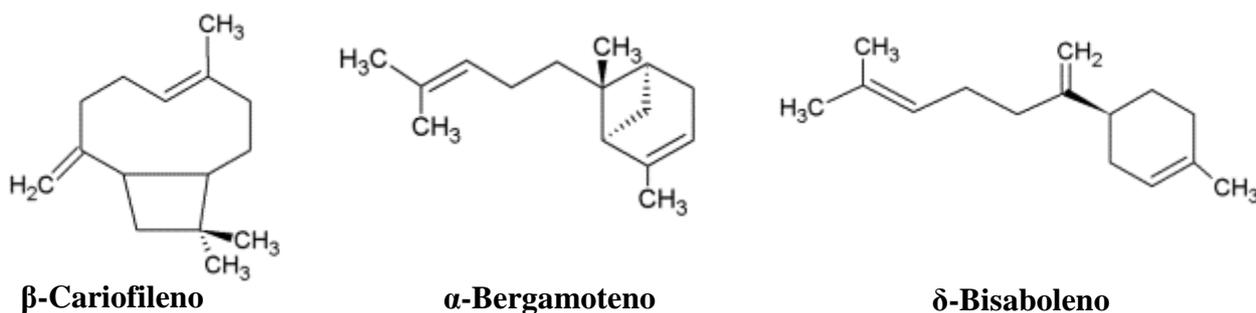
na Tabela 1. Os componentes mais abundantes identificados na óleorresina de *Copaife-  
ra officinalis* foram  $\beta$ -Cariofileno (38,97%),  $\alpha$ -Bergamoteno (4,37%),  $\delta$ -bisaboleno (3,85%) (Figura 1), aromadendreno (3,31%), germacreno D (3,08%),  $\gamma$ -Muuroleno (2,14%). Os compostos  $\alpha$ -Farneseno e  $\beta$ -Bisaboleno foram encontrados em persenta-  
gem menor ou igual a 0,10%.

Tabela 1: Sesquiterpenos identificados no óleorresina de *Copaiba officinalis* analisado em CG-MS, dados em percentagem.

Sesquiterpenos	Tr (min)	<i>Copaife- ra officinalis</i>
$\alpha$ -Copaeno	4,589	0,65
$\alpha$ -Farneseno	5,810	-t
$\beta$ -Cariofileno	6,273	38,97
$\alpha$ -Bergamoteno	6,454	4,37
Germacreno D	6,745	3,08
$\beta$ -Farneseno	7,194	0,94
Aromadendreno	7,289	3,31
$\alpha$ -Humuleno	7,481	1,17
$\delta$ -bisaboleno	7,658	3,85
$\gamma$ -Muuroleno	7,845	2,14
$\gamma$ -elemeno	8,316	0,61
$\beta$ -Bisaboleno	8,513	-t
<b>Total identificado (%)</b>		<b>59,44</b>

Tr (min): tempo de retenção em minutos, (-) Ausente, (-t) Traços com percentagem igual ou abaixo de 0,10 %.

Figura 1. Esrrutura química dos compostos majoritários presentes no óleo de Copaíba:  $\beta$ -Cariofileno,  $\alpha$ -Bergamoteno,  $\delta$ -bisaboleno, respectivamente (LEANDRO et al., 2012).



A Tabela 2 descreve o comportamento das ninfas de *Periplaneta americana* no decorrer das quatro horas em que o teste ocorreu. Como demonstrado na Tabela 3, observou-se que as duas maiores concentrações (500 e 250  $\mu$ g/mL) de óleo testado houve repelência, enquanto a menor concentração (125  $\mu$ g/mL) foi neutra, tendo seu índice de preferência (IP) positivo, porém, dentro da faixa de neutralidade descrita por McDonald et al. (1970).

**Tabela 2:** Localização das ninfas de *Periplaneta americana* nos grupos experimentais de três concentrações diferentes no período de quatro horas.

DADOS CONCENTRAÇÃO	IP (ÍNDICE DE PREFERÊNCIA)	% DE NINFAS NO GC	% DE NINFAS NO GT
500 µg/mL	- 0,86	93,33 %	6,66%
250 µg/mL	- 0,70	85 %	15%
125 µg/mL	+0,10	45%	55%

**Tabela 3:** Índice de preferência (IP) de cada concentração, percentagem de insetos nos grupos controle e tratamento de cada concentração testada.

CONCENTRAÇÃO (µg/mL)		Nº de ninfas/horas							
		HORA 1		HORA 2		HORA 3		HORA 4	
		C	T	C	T	C	T	C	T
500 µg/mL	1	5	0	5	0	5	0	5	0
500 µg/mL	2	5	0	5	0	5	0	5	0
500 µg/mL	3	4	1	3	2	5	0	4	1
250 µg/mL	1	5	0	4	1	4	1	5	0
250 µg/mL	2	4	1	4	1	4	1	5	0
250 µg/mL	3	4	1	4	1	4	1	4	1
125 µg/mL	1	1	4	1	4	2	3	1	4
125 µg/mL	2	5	0	5	0	5	0	5	0
125 µg/mL	3	1	4	0	5	0	5	5	0

IP (índice de preferência): repelência (-0,10 a -1,00), neutro (-0,10 a + 0,10) e atrativo (+0,10 a + 1,00). GC (Grupo controle); CT (Grupo tratamento).

## 4 DISCUSSÃO

Óleos de plantas são amplamente utilizados em formulações de inseticidas e repelentes presentes no mercado atualmente. Esses óleos demonstram eficácia contra vários insetos e outros artrópodes. A maioria dos repelentes de insetos funciona fornecendo uma barreira de vapor impedindo o inseto de entrar em contato com a superfície desejada. A atividade de óleos essenciais é atribuída aos seus componentes principais e a presença de compostos oxigenados aumenta repelência dos óleos (GOMES et al., 2014).

Mesmo os óleos essenciais sendo repelentes eficazes quando aplicados recentemente, os seus efeitos protetores geralmente dissipam rapidamente (GOMES et al., 2014), porém, o óleo da *Copaifera officinalis* não é um óleo essencial, não volatilizando com facilidade e, por consequência, não perdendo sua atividade protetora, o que é uma grande vantagem, pois a longa duração do seu efeito permite que seja reaplicado menos vezes para atingir o efeito esperado. Comprovando isto, observou-se durante

os experimentos que as ninfas dos grupos de maiores concentrações (500  $\mu$ g/mL e 250  $\mu$ g/mL), quando sobre a superfície do papel tratada com o óleo de *Copaifera officinalis*, ficavam incomodadas com as substâncias ali presentes, logo mudando de posição para o lado controle.

A presença abundante de sesquiterpenos na composição química do óleo de *Copaifera officinalis* é um dos fatores que influenciam na atividade repelente apresentada pelo óleo. As propriedades repelentes de vários óleos naturais são frequentemente associadas com a presença de monoterpenos e sesquiterpenos na composição química deles. O componente mais abundante identificado no óleo de *Copaifera officinalis* foi o sesquiterpeno  $\beta$ -Cariofileno (38,97%), seguido do  $\alpha$ -Bergamoteno (4,37%),  $\delta$ -bisaboleno (3,85%), aromadendreno (3,31%), germacreno D (3,08%),  $\gamma$ -Muuroleno (2,14%). Em 1991, Keeler et al. demonstrou a atividade repelente do  $\beta$ -Cariofileno. Vale ressaltar que essa atividade inseticida pode ocorrer também por influência dos outros sesquiterpenos presentes na composição química do óleo e não somente a um composto isoladamente.

O índice de preferência (IP) das duas maiores concentrações testadas, principalmente a de 500  $\mu$ g/mL, foram muito satisfatórios, demonstrando IP dentro dos parâmetros utilizados para a análise. Já a menor concentração testada (125  $\mu$ g/mL), demonstrou-se neutra, provando que a repelência está diretamente ligada não só às substâncias presentes na composição do óleo, como também a concentração testada.

## 5 CONCLUSÃO

No presente estudo, testando a repelência do óleo de *Copaifera officinalis*, apresentou-se atividade repelente em diferentes concentrações. Assim, este estudo tem apontado para novas aplicações do óleo e mostrado uma alternativa para combater baratas domésticas da espécie *Periplaneta americana* com uma fonte biodegradável, natural e com menos malefícios a saúde da população.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography Mass Spectrometry**. Allured Publishing Corporation, 4th ed. Carol Stream, Illinois – USA, 2007.
- ADLER, V.E.; UEBEL, E.C.; SCHMUTTERER, H.; ARCHES, K.R.S. **Effects of Margo-san-O on six species of cockroaches (Orthoptera: Blaberidae, Blattidae) and Blattellidae**. In: SCHMUTTERER, H & ARCHES, K.R.S. (Eds.). **Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A.)**. An other tropical plants. Proceedings Intern. Neem Conference, p.387-392, 1986.
- ARAÚJO JÚNIOR, F. A. de; BRAZ, M. N.; NETO, O. G. da, R.; COSTA, F. de A.; BRITO, M. V. H. **Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico**. Acta Cirúrgica Brasileira, São Paulo, 1:93-99 jan./fev. 2005.
- CARVALHO, H. O.; LIMA, C. S.; SANCHE, A. A.; Silva JOd, Fernandes CP, Carvalho JCT. **Study of the in vitro release profile of sesquiterpenes from a vaginal cream containing *Copaifera duckei* Dwyer (Fabaceae) oleoresin**. J App Pharm Sci. 2015; 5(4): 001-006.
- FRANCISCO, S. G. **Uso do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) em inflamação ginecológica**. Femina, 2:89-93, fev. 2005.
- FREIRE, D. da C. B.; BRITO FILHA, C. R. da C.; CARVALHO ZILSE, G. A. **Efeito dos óleos vegetais de andiroba (*Carapa* sp.) e copaíba (*Copaifera* sp.) sobre forídeo, pragas de colméias, (Diptera: Phoridae) na Amazônia central**. Acta Amazônica, Manaus, 3:365-368, dez. 2006.
- GOMES, M. R. F.; DORNELES, G. G.; SCHUH, R. S.; JACQUES, A. L. B.; BERTHOLDO-VARGAS, L. R.; BORDIGNON, S. A. L.; LIMBERGER, R. P. **Chemical composition of essential oils of *Drimys angustifolia* Miers and *Drimys brasiliensis* Miers and their repellency to drywood termite *Cryptotermes brevis* (Isoptera: Kalotermitidae)**. Revista de ciencias farmaceuticas básica e aplicada, 1:41-46, 2014.
- GOMES, M. R. F.; SCHUH, R. S.; JACQUES, A. L. B.; AUGUSTIN, O. A.; BORDIGNON, S. A. L.; DIAS, D. O.; KELMANN, R. G.; KOESTER, L. S.; GEHRING, M. P.; MORRONE, F. B.; COMPOS, M. M.; LIMBERGER, R. P. **Citotoxic activity evaluation of essential oils and nanoemulsions of *Drimys angustifolia* and *D. brasiliensis* on human glioblastoma (U-138 MG) and human bladder carcinoma (T24) cell lines in vitro**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2012.
- GONÇALVES, R. A. **Desenvolvimento e avaliação in vitro de emulsões contendo óleo de canola e ácidos carboxílicos**. 2000. 138f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

- KEELER, R. F.; TU, A. T. **Toxicological of Plant and Fungal Compounds; Handbook of Natural Toxins**. Marcel Dekker: Nova York, p. 665, 1991.
- LEANDRO, M. L.; VARGAS, F. de S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A. da S.; da VEIGA-JUNIOR, V. F. Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) Oleoresins. *Molecules*, 17:3866-3889, 2012.
- LOPES, R. B. **Controle de *Blattella germânica* (L) com *Metarhizium anisopliae* e inseticidas reguladores de crescimento**. Janeiro, 2005, 121f. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/USP, Piracicaba -SP, Janeiro, 2005.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**, São Paulo: Nova Odessa, 1992.
- MCDONALD, L. L., GUY, R. H., SPEIRS, R. D. **Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored-product insects**. Marketing Research Report No. 882. Washington (DC): Agricultural Research Service, US Department of Agriculture; 1970.
- POTENZA, M. R.; DA SILVA R. C.; ARTHUR, V.; FELICIO, J. D.; ROSSI, M. H.; SAKITA M. N. **Avaliação de produtos naturais irradiados para o controle de *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae)**. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 4:485-492, 2004.
- REYS, L. M. **Baratas como Fonte Mecânica de Transmissão de Patógenos Hospitalares**. 2003. 14 f. Monografia (Graduação). Centro Universitário de Brasília/UniCEUB, Brasília, 2003.
- RODRIGUES, F. A. C.; RIEDER, A.; LEITE, M. C. **Fatores favoráveis e desfavoráveis à ocorrência de baratas (Blattodea) no ambiente hospitalar-cáceres, Mato Grosso, Brasil**. *Biodiversidade*, 2:142-155, 2014.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. **O gênero *Copaifera* L.** *Química nova*, São Paulo, 2:273-286, abr./maio 2002.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. **Plantas medicinais: cura segura?** *Química Nova*[online]. 3:519-528, 2005.
- ZORZENON, F. J. **Noções sobre as principais pragas urbanas**. *Biológico*, São Paulo, 2:231-234, jul./dez., 2002.

# DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM GEL CREMOSO REPARADOR À BASE DE PUNICA GRANATUM

Nathália dos Santos Piedade<sup>1</sup>

Alberto Gomes Tavares Junior<sup>2</sup>

Francisco Fábio Oliveira de Sousa<sup>3</sup>

**Resumo:** As propriedades farmacológicas de *Punica granatum* vêm sendo descritas há muito na literatura científica, dentre estas a atividade antimicrobiana e anti-inflamatória, enfatizando o seu potencial reparador de lesões cutâneas. O presente estudo teve como objetivo preparar um gel cremoso reparador à base do extrato hidroetanólico de *P. granatum*. Partiu-se da casca do fruto, que foi cortada, pulverizada e submetida a maceração dinâmica em etanol a 70%. Para testar a influência da concentração, foram preparadas duas composições de gel cremoso, contendo 0,5 e 1,0% (p/p) em termos de sólidos extrativos incorporados na base Focus Gel 305. Foi preparada ainda uma composição desprovida de ativos, utilizada como controle. As formulações foram submetidas ao teste de estabilidade acelerada para avaliar a sua conservação em três diferentes condições: geladeira (4°C), ambiente (25°C) e estufa (40°C). No decorrer do teste foram avaliados os aspectos sensoriais (aparência, cor e odor) e os seguintes parâmetros: pH e espalhabilidade. As amostras foram ainda submetidas aos ciclos de gelo-degelo e estufa-centrífuga. As formulações obtiveram características de qualidades satisfatórias, sendo a conservação em geladeira a melhor indicada e a composição a 0,5% a mais estável. As formulações semissólidas desenvolvidas a base de *Punica granatum* apresentaram aspecto sensorial e comportamento técnico satisfatórios, respaldando portanto o seu potencial para estudos pré-clínicos *in vivo*, podendo ser uma nova alternativa ao tratamento de lesões cutâneas, nas quais as suas propriedades farmacológicas possam ser benéficas.

**Palavras-chave:** *Punica granatum*. Gel creme. Lesões cutâneas. Pele. Feridas. Romã.

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para curar enfermidades é tão antigo quanto a própria humanidade. Em determinadas ocasiões, os conhecimentos sobre estas é a única saída para grupos e comunidades desprovidas de recursos outros recursos. (MACIEL *et al.*, 2001).

Nos países desenvolvidos, a utilização de produtos à base de fontes naturais é estimulada rotineiramente, não só por fins econômicos, mas pela valorização e ampliação do conhecimento sobre o próprio território, como é o caso do Brasil (VEIGA-

<sup>1</sup> Foi bolsista de desenvolvimento tecnológico e inovação PIBIT/CNPq/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Foi bolsista de iniciação científica PROBIC/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>3</sup> Orientador de iniciação científica. Professor do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

O processo de desenvolvimento de formas farmacêuticas segue o desafio de assegurar a compatibilidade entre os componentes da formulação, assim como a sua qualidade no decorrer da vida de prateleira do produto. A adequada seleção dos insumos, de acordo com o princípio ativo, afeta diretamente na sua liberação, absorção e biodisponibilidade. Ensaio pré-clínicos são realizados buscando atender e confirmar estes e outros critérios utilizados na manipulação de produtos (KULSHRESHTHA; SINGH; WALL, 2010).

A romã, *Punica granatum*, é um arbusto nativo do Oriente Médio. Nas três últimas décadas, esta espécie vem sendo amplamente estudada e é alvo de inúmeros trabalhos científicos. É apontada por ser reservatório de inúmeros compostos ativos com potencial farmacológico. O extrato da fruta apresenta forte capacidade antioxidante (KAUR, 2006). Outras atividades, tal como antibacteriana, anticonvulsivante, anti-inflamatória, antifúngica, imunomoduladora, cardioprotetoras, antimutagênicas, anti-espasmódicos, e antidiabéticos já foram documentadas (FLECK, 2016).

Atualmente, a atividade cicatrizante da romã é relacionada com o seu elevado conteúdo de compostos fenólicos, ao redor de 44% (MURTHY; REDDY; VEIGAS, 2004). Estas moléculas podem precipitar proteínas, sendo esta uma pista para explicar o seu potencial cicatrizante (FLECK, 2016).

A incorporação de extratos e bioativos em formas farmacêuticas, assegura uma melhor administração, tempo de contato, estabilidade e aceitabilidade por parte do paciente. Neste sentido o gel cremoso ganha bastante notoriedade no desenvolvimento galênico, visto que associa características técnicas e sensoriais bastante elevadas, garantindo ainda a possibilidade de incorporação de substâncias de diferentes naturezas, tendo em vista a sua composição anfifílica. Diante do exposto, o presente estudo objetivou desenvolver uma forma farmacêutica de aplicação tópica para incorporação do extrato da entrecasca do fruto de *Punica granatum* para que possa servir como alternativa ao tratamento de lesões cutâneas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 COLETA E OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Os frutos de *Punica granatum* foram coletados em área rural do Estado do Pará, no município de Almerim. Procedeu-se a produção da exsicata e identificação botânica no Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA).

### 2.2 PREPARAÇÕES DOS EXTRATOS DE *PUNICA GRANATUM*

Após a coleta, os frutos foram lavados em água corrente, sendo feito o seu despolpamento. Em seguida, foi realizada a fragmentação das cascas, que foram submetidas a secagem em ambiente fechado, durante 48 horas. O material seco foi triturado em moinho de facas para ser então submetido ao processo extrativo. Dois métodos de extração foram avaliados com o pó obtido:

Método 1: Metade do pó obtido (58g) do pó fino foi macerado durante sete dias com 295 mL de etanol a 95% (20% p/v), trocando o solvente extrator durante este período, três vezes em intervalos iguais, seguindo sempre de filtração. Em seguida, a solução final foi concentrada até o volume de 12,5% com respeito ao inicial e conservada em frascos âmbar.

Método 2: a segunda metade do pó foi macerada com 295 mL etanol a 70% (20% p/v), sendo seguidos os mesmos procedimentos do método acima.

### 2.3 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS

Para determinação da perda de massa por dessecação até peso constante dos extratos obtidos, seguiu-se a metodologia da 5ª edição da Farmacopeia Brasileira, 2010. Placas de petri foram lavadas com água destilada, e então secadas em estufa a 105° por dez minutos. Após resfriamento, as mesmas foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g e posteriormente identificadas. Para cada extrato, utilizou-se

1 mL (em triplicata). As alíquotas foram pesadas e submetidas a estufa a 105°C, sendo retiradas, resfriadas e pesadas novamente a cada duas horas. O processo se repetiu por seis vezes até que duas pesagens se mantivessem constantes não diferindo em mais de 0,5 mg por grama, como consta o método farmacopeico.

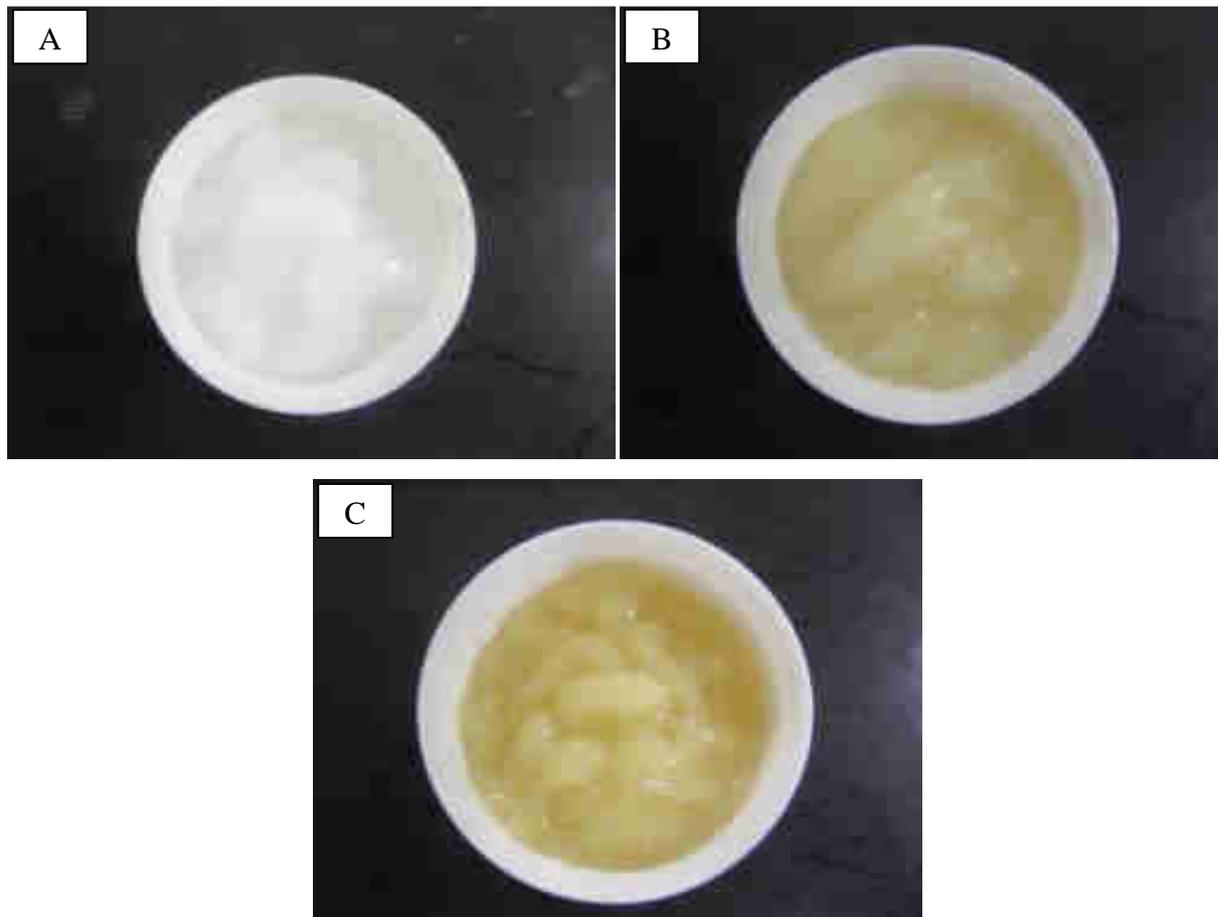
## 2.4 PREPARAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

O extrato concentrado foi incorporado à base semissólida de gel cremoso, inscrita no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010). Esta base apresenta característica evanescente e não oleosa e está composta por:

<i>Poliacrilamida, C<sub>13-14</sub> isoparafina e álcool laurílico etoxilado 7 OE</i> .....	4%	<i>Solução conservante de parabenos</i> .....	3,3%	<i>Solução conservante de imidazolidinil ureia a 50%</i> .....	0,6%
<i>Água destilada</i>	<i>q.s.p.</i>				100%

Os extratos armazenados foram incorporados à formulação. A mistura deu-se em grau e pistilo até a obtenção da consistência requerida. Como controle, a produção de uma base desprovida de extrato foi utilizada. Duas formulações diferentes foram realizadas, a 0,5% e 1,0% (p/p) em termos de sólidos extrativos incorporados a base. Após a preparação, as formulações foram armazenadas em recipientes de plástico polietileno com dupla camada de fundo falso hermeticamente fechados.

Figura 1 - Gel cremoso base (A), Gel cremoso de *Punica granatum* 0,5% (B), Gel cremoso de *Punica granatum* 1% (C).



Fonte: Do autor

## 2.5 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA

As amostras foram submetidas a um estudo de estabilidade acelerada de acordo com os procedimentos descritos no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2004). Foram alocadas em três diferentes temperaturas: ambiente (25°C), geladeira (4°C) e estufa (40°C), de modo que cada condição continha três formulações: gel branco controle (GBC), gel cremoso a base de *P. granatum* 0,5% (GC 0,5%) e gel cremoso *P. granatum* 1,0% (GC 1,0%). Sendo avaliados os seguintes parâmetros: cor, odor, aparência, pH, peso e espalhabilidade no período de 24 horas, 30 e 90 dias, após a obtenção da formulação.

De maneira subjetiva, todas as amostras das diferentes condições foram comparadas, tendo como referência a amostra mantida em geladeira (4°C). Para a avaliação

da aparência, foram observados diferentes níveis de alteração categorizados em: (I) normal, sem alteração; (II) levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo e (III) separado, precipitado ou turvo. A graduação dos níveis de alteração da cor e odor observados na formulação foram classificados de acordo com os seguintes critérios: (I) normal sem, alteração; (II) levemente modificada; (III) modificada e (IV) intensamente modificada (BRASIL, 2004).

## 2.6 PH

Determinou-se o pH por meio de técnica potenciométrica com previa calibração do aparelho na faixa de pH de 4,0; 7,0 e 10,0 através da inserção direta do eletrodo na amostra a temperatura ambiente (25°C) por três vezes, sendo o resultado a média destes valores.

## 2.7 DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE

Empregou-se a metodologia descrita por Knorst (1991), que utiliza placas de vidro sobre uma escala de papel milimetrado para determinar a superfície que a amostra abrange através da medição dos diâmetros perpendiculares, com posterior cálculo do diâmetro médio. A espalhabilidade ( $E_i$ ), a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , foi calculada a partir da equação 1:

$$E_i = \frac{d^2 \cdot \pi}{4} \quad (1)$$

$E_i$  (mm<sup>2</sup>): a espalhabilidade da amostra para peso  $i$ ;

$d$ : o diâmetro médio (mm) alcançado pela amostra após a sobreposição de cada placa.

Foram utilizadas duas placas de vidro com, 10 x 18cm e 0,5cm de espessura, sendo uma delas disposta sobre papel milimetrado. Foi inserido cerca de 1g da amos-

tra sobre a placa, posteriormente adicionados cinco pesos em sequência, com 400, 800, 1200 e 1600, 2000g, a cada um minuto na placa superior, promovendo o espalhamento do produto, que pôde ser medido como extensibilidade em milímetros.

## 2.8 CICLO GELO-DEGELO

Amostras foram armazenadas em temperaturas diferentes, geladeira e estufa, em intervalos ordenados, ou seja, um ciclo de sete dias em cada condição, durante 21 dias (BRASIL, 2004).

Inicialmente as formulações foram colocadas em estufa a 40° C por 7 dias, em seguida transferidas para geladeira, onde permaneceram por mais 7 dias, e então, retornaram à estufa pelo mesmo período. Ao final deste ciclo, as amostras foram submetidas à ação centrífuga a 3000 rpm durante 60 minutos e avaliadas de acordo com os seguintes critérios: (I) sem separação de fases; (II) leve separação de fases; (III) notável separação de fases; (IV) produto com 50% de separação e (V) produto com mais de 50% de separação (BRASIL, 2004).

## 2.9 ESTUFA E CENTRÍFUGA COMBINADOS

As amostras foram alocadas em estufa a 40 °C e após 24 horas foram submetidas à ação da centrífuga durante 1 hora a 3000 rpm, onde foram avaliadas visualmente de acordo com os seguintes critérios: (I) sem separação de fases; (II) leve separação de fases; (III) notável separação de fases; (IV) produto com 50% de separação e (V) produto com mais de 50% de separação (BRASIL, 2004).

## 3 RESULTADOS

As formulações apresentaram aspecto homogêneo brilhoso, não oleoso, inodoro, de coloração levemente marrom devido a presença do extrato de *Punica granatum*. O gel branco usado no controle, apenas se diferenciou por não apresentar a coloração.

### 3.1 SELEÇÃO DO MELHOR MÉTODO EXTRATIVO

A solução extrativa obtida a partir do Método 1 (extrato em etanol 70%) apresentou melhor desempenho. Obteve-se 37,8 mg/mL de resíduos sólidos, frente a 31,6 mg/mL (Método 2). Assim, o primeiro extrato foi utilizado na preparação das formulações. Pode-se dizer que as condições de armazenamento e a presença de metabólitos hidrofílicos na entrecasca da fruta delinearão os resultados.

### 3.2 TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA

#### 3.2.1 Aparência, cor e odor

Através de inspeção visual e sensitivas, as amostras foram avaliadas buscando diferenças nas formulações baseando-se no padrão de qualidade esperado (Tabela 1) .

#### 3.2.2 Gel Cremoso contendo o extrato de *P. granatum* a 0,5%:

Nas três condições de temperatura, este manteve-se dentro do padrão qualitativo esperado para os três parâmetros, após 24h de sua obtenção.

Passando-se 30 dias, a aparência manteve-se idêntica a inicial em todas as condições. O odor das amostras em condição ambiente (25°C) e estufa (40°C) apresentaram leve alteração, indicando ser um aroma característico presente da própria base nesta condição, já que os géis de controle destas mesmas temperaturas também apresentaram esta característica. Sobre a amostra mantida em refrigeração, o odor não apresentou nenhuma modificação em relação a inicial. Nas formulações que continham o extrato a 0,5% armazenadas a 25 e 40°C, apresentaram leve modificação e forte mudança na cor, respectivamente. A amostra mantida a 4°C, não apresentou mudanças.

Após 90 dias, a aparência manteve-se homogênea brilhosa para as amostras em todas as condições. O odor manteve-se levemente alterado nas temperaturas a 25 e 40°C, e a 4°C, permaneceu estável. A cor do preparado mantido em geladeira permaneceu levemente marrom, a 25°C apresentou leve escurecimento, e na estufa apresen-

tou tonalidade moderadamente mais escurecida.

### 3.2.3 Gel Cremoso contendo o extrato de *P. granatum* a 1,0%

Após 24h, os preparados mantidos nas três diferentes temperaturas mantiveram-se dentro dos padrões esperados para os três critérios analisados.

Decorrido 30 dias da produção, a aparência permaneceu como estava desde o início nas três temperaturas. O odor não modificou na amostra a 4°C, porém a 25 e 40°C se observou leve alteração, igualmente como no gel controle, confirmando ser uma característica determinada pela temperatura. A cor obteve tonalidade significativamente mais escura na preparação armazenada a 40°C, levemente a 25°C e inalterada a 4°C.

Aos 90 dias, a aparência permaneceu a mesma para todas as diferentes condições. O odor não apresentou nenhuma alteração a 4°C, leve modificação a 25 e 40°C, assim como no gel controle. A cor permaneceu escura na formulação armazenada a 40°C, em 25°C manteve-se levemente alterada e inalterada a 4°C.

### 3.2.4 pH

Para os géis de controle, sem o extrato de *P. granatum*, o pH manteve um linear ácido desde o início da formulação até o final do teste de estabilidade. Para os géis nos quais os extratos foram incorporados, se obteve ligeiro incremento da acidez associado ao composto fenólico presente na formulação, denominado ácido elágico.

No gel controle, o pH mais ácido manteve-se nas condições a 40°C. Nos géis a 0,5% de *P. granatum*, o menor nível de acidez foi visualizado na temperatura a 4°C, e nas formulações contendo o extrato incorporado na proporção de 1,0%, os menores níveis também foram visualizados a temperaturas de 4°C e 25°C. Associado a menor degradação dos constituintes.

Tabela 1: Aspectos sensoriais (aparência, cor e odor) das formulações contendo extrato de *Punica granatum* e grupo controle

Amostra	Condição	Tempo	Aparência	Odor	Cor
Gel Cremoso Branco (Controle)	Geladeira (4°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	I	I
		90 dias	I	I	I
	Ambiente (25°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	II	I
		90 dias	I	II	I
	Estufa (40°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	II	I
		90 dias	I	II	I
Gel Cremoso a base de <i>P. granatum</i> a 0,5%	Geladeira (4°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	I	I
		90 dias	I	I	I
	Ambiente (25°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	II	II
		90 dias	I	II	II
	Estufa (40°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	II	III
		90 dias	I	II	III
Gel Cremoso a base de <i>P. granatum</i> a 1,0%	Geladeira (4°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	I	I
		90 dias	I	I	I
	Ambiente (25°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	II	II
		90 dias	I	II	II
	Estufa (40°C)	24 horas	I	I	I
		30 dias	I	II	III
		90 dias	I	II	III

Fonte: Do autor. Aparência: (I) normal, sem alteração; (II) levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo e (III) separado, precipitado ou turvo. Cor e odor: (I) normal, sem alteração; (II) levemente modificada; (III) modificada; (VI) intensamente modificada.

Tabela 2: Valores de pH das formulações armazenadas a 4, 25 e 40°C.

Amostra	Tempo	pH		
		4°C	25°C	40°C
Gel Cremoso Branco (Controle)	24 horas	4,6	4,8	4,3
	30 dias	4,7	4,6	4,4
	90 dias	4,6	4,7	4,4
Gel Cremoso a base de <i>P. granatum</i> a 0,5%	24 horas	3,8	3,6	3,5
	30 dias	3,7	3,7	3,6
	90 dias	3,8	3,5	3,4
Gel Cremoso a base de <i>P. granatum</i> a 1,0%	24 horas	3,6	3,6	3,5
	30 dias	3,5	3,6	3,4
	90 dias	3,7	3,5	3,4

### 3.2.5 Determinação da Espalhabilidade ( $E_i$ )

Nas primeiras 24h, os géis contendo o extrato obtiveram maiores níveis de espalhabilidade em comparação com o branco. Apesar de ser possível encontrar pontos em comum entre os comportamentos, a formulação contendo 0,5% de extrato obteve melhor desempenho.

Após 30 dias, o contexto dos números se alterou. Não foi possível traçar uma tendência entre o comportamento dos géis. O controle aumentou a superfície de espalhabilidade durante o período, ficando acima dos demais. O gel contendo 1,0% de *P. granatum* apresentou uma superfície ainda melhor que os preparados a 0,5% (p/v).

Ao final do teste, o gel controle permaneceu como o qual obteve menos resistência aos pesos adicionados, com ampla espalhabilidade durante o período final de observação. Os demais adquiriram maior oposição aos pesos adicionados, no final dos testes, com maior resistência de espalhabilidade comparado com gel controle branco, e ao início do período observacional.

### 3.2.6 Ciclo gelo-degelo

Nenhuma das amostras apresentou alterações após o ciclo, prevalecendo a ideia da boa qualidade dos géis e dos componentes da formulação, confirmando a compatibilidade na composição, mesmo submetida à situação de estresse no processo de armazenagem. Na avaliação sensorial, o critério atribuído foi I - sem separação de fases.

### 3.2.7 Estufa e centrífuga combinados

Após a submissão ao estresse calor-velocidade as amostras permaneceram estáveis, confirmando a compatibilidade na composição dos géis. As formulações obtiveram avaliação I, sem separação de fases.

## 4 DISCUSSÃO

Todas as formulações analisadas após 24 horas não apresentaram nenhuma alteração quanto a aparência, cor e odor.

O gel cremoso contendo o extrato de *P.granatum* a 0,5% (GCPg 0,5%) mantido na temperatura de 25°C e 40°C, se enquadraram na alteração de cor grau II e III, respectivamente, adquirindo uma coloração amarelada mais escura após 30 dias, e alteração de odor grau II para ambas, apresentador leve odor azedo.

O gel cremoso contendo o extrato de *P.granatum* a 1% (GCPg 1%) mantido na temperatura de 25°C e 40°C, apresentou as mesmas alterações observadas no GCPg 0,5%. Nota-se que essas alterações somente foram observadas para as amostras expostas a temperatura ambiente e estufa, sugerindo que a temperatura é a causa dessa instabilidade. A coloração acentuada pode estar associada ao mecanismo de oxidações provenientes da permeação de oxigênio (AULTON, 2005).

Não se observou alterações organolépticas no gel cremoso base durante todo o estudo. Os géis cremosos contendo o extrato e armazenados na geladeira (4°C), per-

maneceram estáveis, propondo que essa temperatura seja ideal para conservação das características organolépticas da formulação.

De forma subjetiva e após análise dos dados, a formulação/condição que manteve as características iniciais com melhor padrão de qualidade, foi o gel armazenado em geladeira a 4°C, indicando que esta temperatura é a mais adequada para conservação e estabilidade das formulações. O odor elevado nas amostras a 25 e 40°C, assim como no gel controle (tabela 1), confirma a característica aromática originada da base a estas condições, e não por determinação do emprego do extrato. A cor escurecida apresentada nas mesmas temperaturas, indicam a degradação de compostos do extrato na base, minimizando as características de qualidade esperadas.

Na análise do pH, percebeu-se que o extrato aumentou levemente a acidez quando incorporada nas bases, indicando modificações químicas na composição dos géis devido as características inerentes dos seus bioativos. Na condição a 4°C, o pH manteve-se mais alcalino quando comparado com as demais condições, confirmando a melhor conservação proporcionada pela menor temperatura.

A espalhabilidade é uma característica essencial para uma forma farmacêutica de uso tópico, pois está relacionada com a adequação da fórmula no momento da administração (BORGHETTI & KNORST, 2006). Após os 30 dias de estudo, foi verificada uma resistência ao espalhamento dos géis contendo extrato. Ao final dos testes, esta característica se manteve. Poucas diferenças nas formulações contendo o extrato foram notadas, sendo o gel com *P. granatum* a 1,0% o que apresentou melhor característica reológicas durante o estudo. Tratando-se de semissólidos, esse parâmetro é importante para avaliar a capacidade que o gel cremoso possui para se espalhar ou abranger determinada área.

Os estresses provocados pelo ciclo de gelo-degelo e estufa e centrífuga combinados, não alteraram as características qualitativas das formulações, confirmando a sua estabilidade mediante condições extremas de armazenamento e conservação.

## 5 CONCLUSÃO

As formulações GCB, GCPg 0,5% e GCPg 1% apresentaram boa estabilidade frente a todas as condições de estresse testadas. As alterações físico-químicas das formulações não foram significativas. A base do gel cremoso apresentou ótima aceitabilidade para a incorporação do extrato de *Punica granatum L.*, apresentando leves modificações nos parâmetros avaliados: aparência, cor, odor, pH e espalhabilidade.

Estas formulações produzidas neste trabalho apresentaram características sensoriais e técnicas adequadas a sua utilização, sendo portanto propícias a aplicação cutânea, e podem ser testadas para o tratamento de lesões cutâneas e outras enfermidades que se beneficiem das inúmeras atividades farmacológicas atribuídas a *Punica granatum*.

## REFERÊNCIAS

- AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. **Development and evaluation of physical stability from O/W lotions containing sunscreens**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 4, 2006.
- BRASIL. **Associação Brasileira de Normas Técnicas, ABNT**. Normas para citações, NBR 10520. 2002.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 5º ed. Brasília, 2010.
- BRASIL. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1. ed. Brasília, 2004.
- FLECK, A. *et al.* **Hydrogel for Wound Care Treatment: From Case Study to Phyto-medicine Standardization**, Molecules, 2016.
- KAUR, G.; JABBAR, Z.; ATHAR, M.; ALAM, A. S. ***Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice**. Food Chem. Toxicol, 2006.
- KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lom) DC. Compositae**

- (Marcela)**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Dissertação (Mestrado) Curso de Farmácia, 1991.
- KULSHRESHTHA, A. K.; SINGH, O. N.; WALL, G. M. **Pharmaceutical Suspensions**. Springer, 2010.
- MACIEL, M. A. M. *et al.* **Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares**. Química Nova, v. 25, n. 3, 2002.
- MURTHY, K. N. C.; REDDY, V. K.; VEIGAS, J. M. **Study on Wound Healing Activity of *Punica granatum* Peel**. Journal of Medicinal Food, v. 7, 2004.
- SANTOS, E. H. B.; BATISTA, F. P. R.; PEREIRA, L. M.; CAMPOS, L. M. A.; CASTRO, M. S.; AZEVÊDO, L. C. **Composição Físico-Química dos Frutos da Romã (*Punica granatum* L.)**. Petrolina-PE, 2008.
- TOLEDO, A. C. O.; HIRATA, L. L.; BUFFON, M. C. M. **Fitoterápicos - Uma abordagem farmacotécnica**. Revista Lecta, Bragança Paulista, v. 21, n. 1,
- VEIGA-JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. **Plantas Medicinais: cura segura?** Química Nova, v. 28, n. 3, 2005.
- JURENKA, J. **Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum*): A Review**. Alternative Medicine Review, v. 13, n. 2, 2008.



# DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO A BASE DE ÁCIDO ANACÁRDICO PARA A DESINFECÇÃO DO CANAL DENTÁRIO

Jennifer Thayanne Cavalcante de Araújo<sup>1</sup>

Francisco Fábio Oliveira de Sousa<sup>2</sup>

**RESUMO:** O tratamento das infecções bacterianas na cavidade oral se baseia principalmente no uso de agentes antimicrobianos sistêmicos e agentes antissépticos, associados ao tratamento químico-mecânico. Tais combinações apresentam alguns inconvenientes, como o surgimento da resistência bacteriana e a formação de manchas, comprometendo o elemento estético dentário. Como uma alternativa, os produtos naturais têm sido candidatos promissores ao desenvolvimento de produtos destinados ao tratamento destas afecções. Através da casca do fruto do cajueiro (*Anacardium occidentale* L), pode-se obter o líquido da castanha do caju, o qual contém até 70% de ácido anacárdico. Através dos avanços tecnológicos, tem-se realizado o aprimoramento de formulações, com o uso de sistemas poliméricos de liberação controlada de fármacos. Dentre os sistemas mais promissores, as nanopartículas são utilizadas no intuito de melhorar a resposta farmacológica, principalmente quando utilizadas *in situ*, o que aumenta o aproveitamento do fármaco, em paralelo a redução dos efeitos adversos. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de uma formulação contendo ácido anacárdico frente a *Enterococcus faecalis*, bactéria relacionada a uma elevada incidência de retratamento endodôntico. Inicialmente, foram realizados estudos de pré-formulação, variando diferentes parâmetros até chegar à composição com melhores resultados, resultando em nanopartículas a base de zeína carregadas com ácido anacárdico. Para respaldar o seu uso, foi avaliada a atividade antimicrobiana *in vitro*, através da determinação da concentração inibitória mínima (MIC) e concentração bactericida mínima (MBC) frente à *Enterococcus faecalis*, através do método de microdiluição em placas. Neste ensaio foram determinadas a concentração inibitória mínima (CIM) (0,0366 µg/mL) e concentração bactericida mínima (CBM) de (0,1465 µg/mL), muito abaixo do que a literatura aponta para o padrão de tratamento - digluconato de clorexidina ≤0,3 mg/mL. Deste modo, constatou-se que as nanopartículas carregadas com ácido anacárdico apresentaram um desempenho satisfatório quanto a inibição do crescimento de *Enterococcus faecalis* *in vitro*, sugerindo que as mesmas possam ser promissoras na profilaxia ou tratamento de infecções de canal dentário. Palavras-chave: Ácido anacárdico; *Anacardium occidentale* L; Endodontia; Nanopartículas; Odontologia.

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientador de iniciação científica. Professor do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

## 1. INTRODUÇÃO

Os sistemas nanoparticulados fazem parte dos avanços tecnológicos que tem por objetivo otimizar a terapêutica através do carreamento de fármacos ou bioativos. Estes sistemas podem ser constituídos de polímeros sintéticos ou naturais, alguns dos quais biodegradáveis (SEVERINO et al, 2011).

Atualmente tem se buscado o aprimoramento de muitos materiais e a composição de formulações cujo princípio ativo advém de produtos naturais. Neste sentido, tem-se buscado ajustar as diferentes metodologias de obtenção e os parâmetros envolvidos no intuito de incorporar bioativos, objetivando principalmente aumentar a estabilidade, melhorar as respostas farmacológicas, diminuir a toxicidade e prover a liberação controlada destas substâncias (BENELLI, 2016; MA et al, 2016).

Outro aspecto que incentiva o desenvolvimento de sistemas nanoparticulados é a limitação crescente das terapias antimicrobianas, considerando o espalhamento da resistência bacteriana aos antibióticos convencionais, com aproximadamente mais de 70% das cepas bacterianas resistentes a pelo menos um fármaco, do qual um dos principais fatores é o uso indiscriminado dos antibióticos (RANGHAR et al, 2014).

A cavidade oral é altamente colonizada por diversos microrganismos de forma harmônica com o organismo sendo em sua maioria bactérias comensais. Entretanto quando ocorre um desequilíbrio entre eles, pode surgir facilmente um quadro de infecção, devido à proliferação descontrolada de bactérias patogênicas oportunistas (ALLAKER; DOUGLAS, 2015; OLIVEIRA et al, 2011a).

As infecções endodônticas decorrem da presença de bactérias que podem advir de cáries profundas, ápice radicular e/ou do periodonto infectados (MAEKAWA et al, 2015). As bactérias se infiltram nos túbulos dentinários, conseguindo persistir e sobreviver em condições extremas, apresentando assim resistência aos tratamentos químico-mecânicos e a medicação intracanal utilizada, o que resulta em um elevado número de casos de reinfecção e retratamento, sendo a bactéria *Enterococcus faecalis* a mais prevalente nestes casos (DI SANTI et al, 2015; TRICHES et al, 2014).

O tratamento das infecções odontológicas pode ser realizado através de preparo químico-mecânico, antimicrobianos sistêmicos e/ou antissépticos locais. A intervenção químico-mecânica quase sempre vem acompanhada de uma medicação. Além da utilização de antimicrobianos, são associados frequentemente os agentes analgésicos e anti-inflamatórios (VIER-PELISSER et al, 2008; ROMEIRO; ROCHA; JORGE, 2010). Os fármacos de uso sistêmico apresentam certa ineficácia quando a infecção está localizada em áreas naturalmente pouco vascularizadas ou ainda que tenham sofrido processos necróticos no curso da infecção (DI SANTI et al, 2015).

Os produtos naturais têm sido testados como candidatos a tais condições, devendo a efetividade e segurança ser asseguradas. O *Anacardium occidentale* L. é popularmente conhecido como cajueiro, pertencente à família Anacardiaceae. Esta espécie possui algumas atividades farmacológicas já descritas, tais como antibacteriana (HEMSHEKHAR et al, 2011), antitumoral (LEGUT et al, 2014) e anti-ulcerativa (SHILPA; KAVERI; SALIMATH, 2015). O seu fruto, a amêndoa, também conhecida como castanha do caju é um grande produto de exportação do Brasil (AGOSTINI-COSTA, 2004).

A partir do mesocarpo da casca da castanha do caju pode ser extraído um líquido escuro, cáustico e inflamável, rico em compostos fenólicos de hidrocarboneto de cadeias longas (AGOSTINI-COSTA, 2004; KUBO et al, 2011). Este líquido é denominado líquido da castanha do caju (LCC) e é constituído por ácido anacárdico (composto majoritário), cardol, cardanol e alguns fenóis e substâncias menos polares, resultando em uma característica anfipática (HAMAD & MOBOFU, 2015).

O ácido anacárdico, de forma isolada, possui algumas atividades biológicas relatadas por outros autores, tais como antioxidante (OLIVEIRA et al, 2011b), gastroprotetora (MORAIS et al, 2010), anti-inflamatória (MAMIDYALA et al, 2013) e antibacteriana (SILVA et al, 2008).

Neste sentido, o uso do ácido anacárdico como agente antibacteriano poderia ser otimizado, no desenvolvimento de sistemas nanoparticulados com a incorporação

deste bioativo para aplicação *in situ* auxiliando na profilaxia e tratamento das infecções endodônticas. Diante disso, o presente estudo se propôs a avaliar a sua atividade *in vitro* frente a esta bactéria.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 OBTENÇÃO DO ÁCIDO ANACÁRDICO

O ácido anacárdico foi obtido a partir de extração a frio em contrafluxo de solvente de acordo com a metodologia proposta por TREVISAN *et al.* (2006). A partir do extrato evaporado em evaporador rotativo, foi preparada uma solução hidroetanólica a 5% de modo a realizar o procedimento experimental. A concentração foi ajustada para 302 µg/ml para iniciar os estudos como solução de estoque.

### 2.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foi preparada uma solução de etanol/água na qual foi dispersa inicialmente a proteína Zeína e em seguida incorporado o ácido anacárdico e seu agente dispersante (teste). Foram preparadas ainda uma formulação desprovida de ativo contendo o agente dispersante (NanoB1) e outra desprovida de ambos (NanoB2). O veículo das preparações também foi utilizado como controle (negativo) e o digluconato de clorexidina (CHX) a 0.12 % (controle positivo)

### 2.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

#### **d.1 Cultivo e padronização do *E. faecalis*.**

Foi utilizada a bactéria padronizada (*American Type Culture Collection - ATCC*) – *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), a qual foi mantida e cultivada segundo as condições específicas do laboratório fornecedor. O inóculo foi preparado tomando-se de três a quatro colônias da cepa isolada em meio BHI ágar, sendo diluídos em meio BHI até atingirem a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de Mac-Farland, con-

tendo aproximadamente  $10^8$  unidades formadoras de colônia (UFC). As mesmas foram mantidas em geladeira por no máximo 24 horas antes de cada cultivo.

#### **d.2 Concentração Inibitória Mínima (MIC) e Concentração Bactericida Mínima (MBC) através da microdiluição em placas.**

A atividade antibacteriana da formulação com o ativo (NanoAA) e dos respectivos controles (NanoB1, NanoB2, veículo e digluconato de clorexidina) foram avaliadas através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC) e da Concentração Bactericida Mínima (MBC) em conformidade com as diretrizes CLSI (NCCLS, 2006; CLSI, 2006). Para determinação da MIC, diluições em série da solução do agente antimicrobiano foram efetuadas em caldo BHI, sendo 100  $\mu$ L de cada diluição da formulação foi adicionado a 190  $\mu$ L de caldo BHI em placa estéril de 96 poços e 10  $\mu$ L do inoculo. Uma solução de etanol a 35% e solução de clorexidina 0,12% foram utilizadas como controles negativo e positivo, respectivamente. O resultado do teste foi determinado através da observação de turvação nos poços após 24 horas de incubação a 37°C em atmosfera de microanaerobiose.

A MIC foi definida como a concentração mais baixa de agente antimicrobiano capaz de inibir completamente o crescimento dos microrganismos nos poços (NCCLS, 2006). Para determinar o MBC, uma alíquota de 30  $\mu$ L obtida a partir dos 2 poços não turvos imediatamente acima da MIC foram semeados em Ágar de Mueller-Hilton e incubadas durante 48 h a 37°C. A MBC foi definida como a concentração mínima do agente testado capaz de matar a maioria ( $\geq 99.9\%$ ) dos microrganismos viáveis após incubação (NCCLS, 2006). Três réplicas foram realizadas.

## **2.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS**

Os dados referentes a cada ensaio foram expressos em forma de média aritmética  $\pm$  desvio padrão da média. Foram submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA). Caso os resultados passem neste teste, foi realizada e a comparação das diferenças entre as médias aos pares realizada pelo teste de Tukey (com nível de signifi-

cância de 5%). Foi utilizado o software InStat e GraphPad Prism 5.

### 3. RESULTADOS

Após a etapa de pré-formulação, foi selecionada a composição contendo zeína a 0,0712 % (p/v) e 9,375 µg/ml de ácido anacárdico, por apresentar resultados satisfatórios (tamanho de partícula de 381,6 nm e potencial zeta de -15,9 mV), sendo portanto escolhida como grupo teste (NanoAA).

Diante disso, foram desenvolvidas nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico, que foram denominadas NanoAA, juntamente com seus respectivos controles (NanoB1, NanoB2 e veículo)

Em relação ao ensaio antimicrobiano frente à bactéria *E. faecalis*, tanto a formulação NanoAA como o controle positivo CHX foram efetivos na inibição do crescimento de *E. faecalis*. Por outro lado, nem as nanopartículas controles (NanoB1 e NanoB2) como o veículo apresentaram este comportamento, confirmando assim unicamente o papel do ácido anacárdico (Tabela 1).

Tabela 1 - Avaliação de inibição/crescimento microbiano de *E. faecalis*.

Testes	Inibição	Crescimento
NanoAA	+	-
NanoB1	-	+
NanoB2	-	+
Veículo	-	+
CHX	+	-

Veículo: etano 35%; CHX: digluconato de clorexidina 0,12%;

Tanto a concentração inibitória mínima (CIM) como a concentração bactericida mínima (CBM) (Tabela 2) da formulação testada foram abaixo ao que a literatura aponta para o padrão de tratamento - digluconato de clorexidina com CIM ≤0,3 mg/mL (ANDRADE et al, 2011).

Tabela 2 - Concentração inibitória mínima e bactericida mínima frente à *E. faecalis*.

Micro-organismo	NanoAA	
	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)
<i>E. faecalis</i>	0,0366	0,1465

## 4. DISCUSSÃO

Segundo Schaffazick e Guterres (2003) a formação de precipitados nos sistemas coloidais é decorrente da agregação das nanopartículas no meio, onde vários fatores podem influenciar esta agregação como o tamanho, polidispersão de partícula e potencial  $\delta$ . As nanopartículas carregadas com ácido anacárdico mantiveram-se estáveis durante todos o período experimental. Um estudo realizado por Ahmed et al (2016) envolvendo o desenvolvimento de nanopartículas de zeína para o carreamento de substâncias, obteve resultados semelhantes em relação a determinação de tamanho de partícula e potencial  $\delta$ .

Holetz et al (2002) estabeleceu critérios de aceitação de atividade antimicrobiana de extratos, sendo abaixo de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  indicio de boa atividade antimicrobiana. Outrossim, segundo Hamad & Mubofu (2015) o ácido anacárdico possui ação antimicrobiana principalmente contra bactérias Gram-positivas e esta ação é dependente do local da insaturação na cadeia hidrofóbica.

O ácido anacárdico é testado na sua maioria na forma *in natura* frente a diversas cepas de bactérias, apresentando resultados satisfatórios, sendo considerada por Hemshekhar et al (2011) um forte candidato na busca por alternativas contra as resistências a múltiplos fármacos e infecções microbianas patogênicas as complicações secundárias associadas.

De acordo com os estudos anteriores sobre as atividades antimicrobianas de ácido anacárdico em teste com outras bactérias avaliando a atividade antimicrobiana frente à *Streptococcus mutans*, foi determinado a CBM de 2,5mg/mL (SILVA et al, 2012). Sendo observado que as NanoAA obtidas apresentaram valores de concentração de inibição bastante inferiores ao estabelecido por Holetz et al (2003), sugerindo uma excelente ação bactericida, respaldando a sua finalidade de uso nas infecções endodônticas.

Além disso, observou-se que as nanopartículas controles (NanoB1 e NanoB2) e o veículo utilizado não apresentaram nenhum poder inibitório contra a bactéria testa-

da, de forma que entende-se que os constituintes do sistema coloidal não possuem efetividade sem a presença do ácido anacárdico, sendo atribuída somente a ele a ação antimicrobiana, cuja efetividade em tão baixas concentrações se deve a formulação desenvolvida.

## 5. CONCLUSÃO

As nanopartículas desenvolvidas carregadas com ácido anacárdico possuem resultados bastante promissores na profilaxia e tratamento de infecções endodônticas ocasionadas pela bactéria *E.faecalis*, podendo contribuir de modo efetivo na diminuição do número de casos de reinfecções e retratamento. A sua efetividade demonstrada *in vitro* em mínimas concentrações o torna bastante atrativo tanto do ponto de vista do custo e do aproveitamento de um produto de descarte da indústria alimentícia, como também sob o ponto de vista clínico, respaldando a minimização de efeitos adversos dose-dependentes, como também da possibilidade de uso sem o comprometimento do elemento estético dentário na aplicação esperada.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, I. P; FARDIN, R. F; XAVIER, K. B. C; NUNES, A. P. F. Concentração inibitória mínima de antissépticos bucais em micro-organismos da cavidade oral. **Revista brasileira de pesquisa em saúde**, v.13, n.3, p.10-16, 2011.
- AGOSTINI-COSTA, T. da S; JALES, K. A; GARRUTI, D. dos S; PADILHA, V. A; LIMA, J. B. de; AGUIAR, M. de J; PAIVA, J. R. de. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale var. nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p. 1075-1080, 2004.
- AHMED, O. A. A; ZIDAN, A. S; KHAYAT, M. Mechanistic analysis of Zeína nanoparticles/PLGA triblock in situ forming implants for glimepiride. **International Journal of Nanomedicine**, v.11, p.543-555, 2016.
- ALLAKER, R. P; DOUGLAS, C. W. I. Non-conventional therapeutics for oral infections Non-conventional therapeutics for oral infections. **Virulence**, v.6, n.3, p.196-207, 2015.

- BENELLI, G. Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. **Parasitology Research**, v.115, p.23-34, 2016.
- CLSI. – **Laboratory documents: development and control; approved guideline**. 5th edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne (PA); 2006.
- DI SANTI, B. T; RIBEIRO, M. B; ENDO, M. S; GOMES, B. P. F de A. Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias anaeróbias facultativas isoladas de canais radiculares de dentes com insucesso endodôntico frente aos antibióticos de uso sistêmico. **Revista de Odontologia da UNESP**, v.44, n.4, p.200-206, 2015.
- HAMAD, F. B; MUBOFU, E. B. Potential Biological Applications of Bio-Based Anacardic Acids and Their Derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, v.16, p.8569-8590, 2015.
- HEMSHEKHAR, M; SANTHOSH, M. S; KEMPAIAH, K; GIRISH, K. S. Emerging roles of anacardic acid and its derivatives: a pharmacological overview. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v.110, p.122-132, 2011.
- HOLETZ, F.B; PESSINI, G.L; SANCHES, N.R; CORTEZ, D.A. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, v.97, n.7, p.1027-31, 2002.
- KUBO, I; NITODA, T; TOCOLI, F. E; GREEN, I. R. Multifunctional cytotoxic agents from *Anacardium occidentale*. **Phytotherapy Research**, v.25, p.38-45, 2011.
- LEGUT, M; LIPKA, D; FILIPCZAK, N; PIWONI, A; KOZUBEK, A; GUBERNATOR, J. Anacardic acid enhances the anticancer activity of liposomal mitoxantrone towards melanoma cell lines – in vitro studies. **International Journal of Nanomedicine**, v.9, p.653-668, 2014.
- MA, B. L; YIN, C; ZHANG, B. K; DAI, Y; JIA, Y. Q; YANG, Y; LI, Q; SHI, R; WANG, T. M; WU, J. S; LI, Y. Y; LIN, G; MA, Y. M. Naturally occurring proteinaceous nanoparticles in *Coptidis Rhizoma* extract act as concentration dependent carriers that facilitate berberine absorption. **Scientific Reports**, v.6, 2016.
- MAEKAWA, L. E; ROSSONI, R. D; BARBOSA, J. O; JORGE, A. O. C; JUNQUEIRA, J. C; VALERA, M. C. Different Extracts of *Zingiber officinale* Decrease *Enterococcus faecalis* Infection in *Galleria mellonella*. **Brazilian Dental Journal**, v.26, n.2, p.105-109, 2015.
- MAMIDYALA, S. K; RAMU, S; HUANG, J. X; ROBERTSON, A. A. B; COOPER, M. A. Efficient synthesis of anacardic acid analogues and their antibacterial activities. **Bio-organic & Medicinal Chemistry Letters**, v.23, p.1667-1670, 2013.
- MORAIS, T. C; PINTO, N. B; CARVALHO, K. M. B; RIOS, J. B; RICARDO, N. M. P. S; TREVISAN, M. T. S; RAO, V. S; SANTOS, F. A. Protective effect of anacardic acids

from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol – induced gastric damage in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 183, p. 264-269, 2010.

NCCLS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. 7th edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne (PA);2006.

OLIVEIRA, I. L. M. DE; FERREIRA, A. C. DE A; MANGUEIRA, D. F. B; MANGUEIRA, L. F. B; FARIAS, I. A. P. Antibiotics of odontological use: information to correct practice. **Odontologia Clínico-Científica**, v.10, n.3, p.217-220, 2011a.

OLIVEIRA, M. S. C; MORAIS, S. M. de; MAGALHÃES, D. V; BATISTA, W. P; VIEIRA, Í. G. P; CRAVEIRO, A. A; MANEZES, J. E. S. A. de; CARVALHO, A. F. U; LIMA, G. P. G. de. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut Shell liquid constituents. **Acta Tropica**, v. 117, p.165-170, 2011b.

RANGHAR, S; SIROHI, P; VERMA, P; AGARWAL, V. Nanoparticle-based Drug Delivery Systems: Promising Approaches Against Infections Shweta. **Brazilian Archives of Biology Technology**, v.57, n.2, p.209-222, 2014.

ROMEIRO, R. de L; DA ROCHA, R. F; JORGE, A. O. C. Etiologia e tratamento das doenças periimplantares. **Odonto**, v.18, n.36, p.59-66, 2010.

SCHAFFAZICK, S.R; GUTERRES, S.S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química nova**, v.26, n.5, p.726-737, 2003.

SEVERINO, P; SANTANA, M.H.A; MALONGE, S.M; SOUTO, E.B. Polímeros usados com o sistema de transporte de princípios ativos. **Polímeros**, v.21, n.5, p.361-368, 2011.

SHILPA, P; KAVERI, K; SALIMATH, B. P. Anti-metastatic action of anacardic acid targets VEGF – induced signaling pathways in epithelial to mesenchymal transition. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v.9, n.1, p.53-65, 2015.

SILVA, R. A. da. **Ação antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.: Potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie**. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, São Luís - Maranhão, 2012.

SILVA, M. S. S; DE LIMA, S. G; OLIVEIRA, E. H; LOPES, J. A. D; CHAVES, M. H; REIS, F. A. M; CITÓ, A. M. G. L. Anacardic acid derivatives from brazilian propolis and their antibacterial activity. **Eclética Química**, v.33, n.3, p.53-58, 2008.

TREVISAN, M. T. S; PFUNDSTEIN, B; HAUBNER, R; WURTELE, G; SPIEGELHALDER, B; BARTSCH, H; OWEN, R. W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p.188-197, 2006.

TRICHES, T. C; FIGUEIREDO, L. C. de; FERES, M; FREITAS, S. F. T. de; ZIMMERMANN, G. S; CORDEIRO, M. M. R. Microbial Reduction by Two Chemical-Mechanical Protocols in Primary Teeth with Pulp Necrosis and Periradicular Lesion - An *In Vivo* Study. **Brazilian Dental Journal**, v.25, n.4, p.307-313, 2014.

VIER-PELISSER, F. V; GARBIN, R. P; SÓ, M. V. R; MARCA, C; PELISSER, A. Medicamentos intracanal e sistêmica preconizadas nas faculdades de Odontologia brasileiras para o tratamento de urgência do abscesso periapical agudo. **Revista Odonto Ciência**, v.23, n.3, p.278-282, 2008.



# ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA E DA LASERTERAPIA NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO E REPARO DE ÚLCERAS INDUZIDAS EM MODELOS DE ROEDORES

Taynara Camille Guilherme Lima<sup>1</sup>

Ana Rita Pinheiro Barcessat<sup>2</sup>

**RESUMO:** A terapia fotodinâmica do inglês *PhotodynamicTherapy- PDT* é uma técnica secular baseada na interação da luz visível, uma molécula fotosensível e oxigênio tecidual, capaz de gerar altos índices de estresse oxidativo pelas espécies reativas de oxigênio- E-ROS (do inglês ROS) que libera e que são capazes de inviabilizar células e microorganismos tendo como alvo várias organelas e substratos celulares e acelulares, tem sido assim utilizada nos tecidos biológicos para fins diversos a depender da molécula fotosensibilizadora, dentre eles o de descontaminação de feridas e superfícies bem como redução tumoral, para fins antimicrobianos o principal fotosensibilizador é o azul de metileno (AM). O presente estudo se propôs a verificar o efeito da PDT mediada pelo azul de metileno (AM -PDT) sobre a redução de dimensões de feridas induzidas em modelos de roedores durante o processo de cicatrização/reparo. Os animais foram aleatoriamente agrupados e tratados através de pomada de clorafenicol, fibrinolisin, desoxirribonuclease, (grupo controle positivo) com laser vermelho, 660nm, 40mW, 120J/cm<sup>2</sup> (grupo 1), com PDT utilizando-se o mesmo laser como fonte de ativação porém com 5 minutos de aplicação prévia de azul de metileno 0,05% (grupo 2) e somente com água destilada (grupo controle negativo), as lesões foram medidas linearmente e em profundidade e fotografadas antes e nos tempos experimentais de 24, 48 e 72 horas. Após os tratamentos, fora realizado o exame histopatológico dos espécimes no tempo experimental de 72 horas. A partir dos resultados, observou-se que a laserterapia apresentou resultados eficazes em relação aos demais grupos quanto a cicatrização, reparo e redução das lesões (46,6%) aqui apresentadas. No entanto, a terapia fotodinâmica também demonstrou efeitos satisfatórios, principalmente quanto à porcentagem da redução clínica da área da lesão (20%), edema e resposta à dor. Foi verificado uma redução clínica menor da área da lesão (16%) no grupo controle positivo e aumento de área no grupo negativo, além disso, ambos os grupos apresentaram aumento histológico da área da lesão. Histologicamente observaram-se células sanguíneas extravazadas para o interstício nos grupos que não foram ativados com luz. Verificando-se o efeito da PDT mediada pelo azul de metileno (AM-PDT) sobre a redução de dimensões de feridas induzidas durante o processo de cicatrização/reparo observa-se que esta terapia reduz o tempo clínico, melhora o aspecto e diminui a área de lesão em relação às técnicas convencionais. A redução das dimensões das feridas diante das diferentes técnicas foi efetiva tendo as técnicas fotoativadas (laser e PDT) apresentando resultados significativos em relação à redução da lesão em 72 horas. Portanto, observa-se que a terapia fotodinâmica, assim como a laserterapia, demonstram efeitos promissores no reparo, cicatrização e redução das lesões.

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica, Laserterapia e Cicatrização.

---

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2014-2015.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Enfermagem da UNIFAP.

## 1 INTRODUÇÃO

**M**odificações na integralidade cutânea, particularmente, quando as úlceras/lesões encontram-se infectadas, apresentam-se, muitas vezes, como obstáculo para a saúde pública em decorrência da dificuldade de cicatrização, da resistência aos medicamentos, dos efeitos colaterais ao paciente e, conseqüentemente, da qualidade de vida reduzida para este. Sendo assim, devido às limitações encontradas nas terapias convencionais para a descontaminação e conseqüente regeneração tecidual, a utilização de novos métodos alternativos se fazem necessários (PAOLILLO, 2014).

Nesta perspectiva, a PDT apresenta-se como técnica alternativa voltada, principalmente, para a descontaminação de feridas, cujos altos níveis de estresse oxidativo gerado por meio da associação da tríade da PDT, qual seja luz, oxigênio e fotosensibilizador, são capazes de inviabilizar células e microorganismos ativando cascatas de necrose, apoptose e autofagia celular (NÓBREGA, 2005).

De acordo com Hamblim e Hasan (2004), existem relatos de PDT utilizados para tratar infecções em modelos animais selecionados e de ensaios clínicos, principalmente para lesões virais, mas também para a acne, infecções por *Helicobacter pylori* gástrico e abscessos cerebrais. Sugerem ainda que as futuras aplicações clínicas incluam estudos voltados para infecções em feridas e queimaduras, infecções dos tecidos moles e abscessos intratáveis, infecções em cavidades do corpo como a boca, ouvido, seios nasais, da bexiga e do estômago e infecções superficiais da córnea e da pele.

Os resultados descritos na literatura, sugerem que a PDT é uma terapêutica não invasiva e mais seletiva e que não oferece risco de produzir resistência bacteriana, como os antimicrobianos. Além disso, observa-se também que a PDT destina-se a evitar bacteremia por manipulação, quando aplicado previamente em regiões com contaminação bacteriana. Visa também preservar a microbiota bacteriana estomacal e intestinal benéficas ao organismo, já que a aplicação do laser e do corante é apenas local; Além do que, trata-se de uma terapia que pode ser utilizada com segurança em paci-

entes alérgicos, idosos e debilitados (NÓBREGA, 2005).

Além de apresentar efeitos antimicrobianos amplamente reconhecido, a PDT tem demonstrado resultados promissores em relação ao processo de descontaminação de feridas cutâneas e, conseqüentemente, reparo destas, sendo este último evento caracterizado pela substituição do tecido lesado ou ainda, morto, por células provenientes do parênquima ou do tecido conjuntivo danificado (PAOLILLO, 2014).

Tais evidências têm sido apontadas por estudos, como o de Nóbrega (2005) que avaliou, histologicamente, a ação do laser, bem como da PDT no processo de reparo de feridas induzidas em ratos tratados com corticoides. Ao final, verificou-se que o grupo tratado com PDT apresentou respostas mais eficazes no tratamento, cuja reparação do tecido mostrou-se bem mais diferenciada e evoluída, comparada aos demais grupos.

Diante desses resultados, acredita-se que a PDT pode apresentar resultados promissores em outras situações, tendo ação antimicrobiana em outros tipos de tecido e se mostrando uma alternativa eficaz, contribuindo conseqüentemente para cicatrização e reparo do tecido lesado (HAMBLIN; HASAN, 2004).

Sendo assim, o presente estudo teve como finalidade verificar o efeito da PDT mediada pelo azul de metileno (AM -PDT) sobre a redução de dimensões de feridas induzidas em modelos de roedores durante o processo de reparo.

## **2 MATERIAL E MÉTODO**

### Indução da ferida

Dezesseis camundongos da espécie *Mus musculus*, Família Muridae, Raça swiss, machos, receberam uma úlcera induzida no dorso. As lesões foram induzidas, utilizando como instrumento um punch de dimensões 6x6x3 mm de altura, largura e profundidade, respectivamente, sob anestesia geral no dorso dos animais precedida de tricotomia com instrumento apropriado e descartável.

Estes animais foram aleatoriamente divididos nos grupos descritos a seguir

### Grupos experimentais

Todos os grupos tiveram no total 4 animais N=4 conforme distribuição na tabela 1 adiante e foram submetidos sob as mesmas condições experimentais.

**Tabela 1 - Distribuição dos animais em função dos grupos e tempo experimental**

Grupo	Tempo 24h
CN <sup>1</sup> água destilada	N= 4
CP <sup>2</sup> fibrase	N= 4
GPDT associação luz + corante	N= 4
Glaser só luz laser	N= 4
Total	16

<sup>1</sup>CN - controle negativo; <sup>2</sup> CP - Controle positivo; GPDT

a) Grupo PDT - Composto por 4 animais, para a execução da PDT, os animais foram previamente anestesiados com injeção intraperitoneal de quetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). Após confirmação de sedação profunda foi gotejado azul de metileno 0,01% que permaneceu sobre a ferida por 5 minutos, ao ser retirado o excesso procedeu-se a irradiação com laser vermelho cujos parâmetros encontram-se na demonstrados na tabela 2.

**Tabela 2 - Parâmetros da fonte de Luz laser**

Comprimento de onda - $\Lambda$ - (nm)	660
Potência (mW)	40
Energia (J/ponto)	3,6
Densidade de energia por ponto (J/cm <sup>2</sup> )	90
Área do ponto (cm <sup>2</sup> )	0,04
Tempo por ponto (min)	1,5
n° de irradiações	1
N° de pontos irradiados	2
Densidade de potência mW/cm <sup>2</sup>	1000

Fonte: BARCESSAT, A. R, et al. (2013).

Parâmetros experimentados previamente com a finalidade de ativação de cascata de morte celular.

b) Grupo Laser - GLaser: as feridas foram somente irradiadas nos mesmos parâmetros, sem tratamento prévio com azul de metileno.

c) Grupo controle positivo: pomada de clorafenicol, fibrinolisisina, desoxirribonuclease - fibrase.

d) Grupo controle negativo: as feridas foram somente lavadas com água destilada.

O Biotério do Laboratório de Toxicologia da Universidade Federal do Amapá forneceu os animais, que foram alimentados com ração comercial (Labina®, Purina, Bayer, Brasil) e com água ad libitum, submetidos a ciclos de 12 horas de claro e escuro e mantidos em gaiolas individuais durante todo o experimento.

#### Monitoração das lesões, Eutanásia e retirada do material de análise

As lesões foram fotografadas e medidas sob sedação, por um examinador alheio ao protocolo experimental (de forma cega) com um paquímetro (medidas lineares) e com uma sonda milimetrada (medida em profundidade) em 24, 48 e 72 horas após o tratamento, neste tempo houve a eutanásia dos animais e, posteriormente, a necropsia.

Os animais de todos os grupos sofreram eutanásia por superdosagem anestésica.

A área do dorso necropsiada foi seccionada longitudinalmente e fixada em paraformaldeído a 20% em solução tampão de fosfato de sódio dibásico anidro e monobásico de pH 7,0, preparada no mesmo dia da utilização e os fragmentos foram enviados para processamento histológico.

#### Preparo e análise histopatológica

O material foi fixado, aproximadamente, 24h e no máximo 48h, a partir do que foi seccionado no plano sagital mediano e processado para inclusão em parafina. Primeiramente foram realizados 2 banhos de 10 minutos na solução tampão do formol (fosfato de sódio dibásico anidro e monobásico) e, a seguir, para iniciar a desidratação do tecido, as peças foram imersas em banhos crescentes de etanol (do etanol 30% com duração de 10 min até o etanol 70%). Em seguida, foram introduzidas em cadeia crescente de banhos em etanol até o etanol absoluto. Foi realizado então banho com etanol/xilol 50%, dois banhos em xilol e, por fim, imersão em parafina com ponto de fusão em 60°C, confeccionando-se os blocos de tecido. Cortes de 5µm foram obtidos em

micrótomo e, a seguir, foram corados em hematoxilina e eosina sendo então analisados em microscopia de luz convencional.

### Medidas Histológicas

Após o preparo histológicos dos espécimes a medida linear da borda da úlcera remanescente foi tomada, considerando a descontinuidade do epitélio através do software Image J, obtida em pixels por cm.

### Análise estatística

Procedeu-se a estatística descritiva utilizando média para os dados numéricos obtidos na medida das áreas, bem como para as porcentagens obtidas na quantificação da redução da área.

Foi realizado teste de Kruskal-Wallis, para comparações múltiplas, e teste não-paramétrico de Mann-Whitney, para análises dois-a-dois. O nível de significância adotado foi de 5%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Redução das lesões

**Tabela 3 - Avaliação do edema, hiperemia, secreção e resposta à dor**

Grupos	Edema	Hiperemia	Presença de secreção	Resposta a dor
Grupo 1 - Laser	1	1	Não	Não
Grupo 2 - Laser + Azul de Metileno (PDT)	1	2	Sim	Não
Grupo 3 - Controle Positivo	2	1	Sim	Sim
Grupo 3 - Controle Negativo	3	2	Sim	Sim

**Legenda:** Edema - Escala de 1 à 3: 1) Pouco edemaciado, 2) Edemaciado, 3) Muito edemaciado. Grau de Hiperemia - Escala de 1 à 3: 1) Pouca Hiperemia, 2) Hiperemia, 3) Muita Hiperemia.

**Tabela 4 - Média das medidas e da porcentagem de variação da área da lesão induzida**

Área das lesões (Análise clínica)				
	Início (mm <sup>3</sup> )	Fim (mm <sup>3</sup> )	% variação	Valor de p
Laser	108	50	46,6 <sup>a</sup>	
PDT	60	32	20 <sup>b</sup>	
C positivo	108	20	16,6	0,039
C negativo	60	120	-100	

Valor de p para o teste de Kruskal-Wallis.

a= estatisticamente significativa em relação aos controles positivo e negativo

b = estatisticamente significativa em relação ao controle negativo

**Tabela 5** - Média das medidas Histológicas (pixels/cm)

Medidas Histológicas (pixels/cm)		
Grupo	Medida	Valor de p (Kruskal Wallis)
Laser	557.08 <sup>a</sup>	0,023
PDT	605.11 <sup>b</sup>	
Controle Positivo	1671 <sup>c</sup>	
Controle negativo	2228 <sup>d</sup>	

Valor de p para o teste de Kruskal-Wallis. a= estatisticamente significante em relação aos controles positivo e negativo, sem diferença estatística em relação ao grupo PDT. b= estatisticamente significante em relação aos controles negativos e positivo e sem diferença em relação ao grupo laser. c= sem diferença estatística significativa em relação ao grupo controle negativo e diferente do grupo laser. d= diferente estatisticamente dos grupos laser e PDT sem diferença estatística pelo teste de kruskal wallis para o grupo controle negativo.

Na tabela 4, observa-se que o maior percentual de redução clínica das lesões, levando em consideração também o pouco edema e hiperemia e a ausência de secreção e dor (tabela 3), está presente no grupo 1 (laser). Essa amostra apresentou, em superfície, uma melhora entre as demais, em relação ao percentual de redução e em aspectos visuais, como: vermelhidão, edema, retração da ferida e tecido de granulação. Além disso, o grupo laser também apresentou a menor medida histológica da área da lesão em relação aos demais grupos (tabela 5).

Segundo Leite et al (2009), a laserterapia é uma terapêutica que tem sido utilizada com o objetivo de acelerar a cicatrização devido a sua ação bioestimuladora, analgésica e anti-inflamatória. Tal evidência demonstra o possível motivo pelo qual o grupo 1 (laser) apresentou melhores resultados quanto à redução da lesão, edema, hiperemia, secreção e dor, demonstrando também ao final a menor medida histológica da área da lesão.

Ainda que o grupo laser tenha apresentado resultados mais vantajosos quanto aos demais grupos em relação às características avaliadas acima, o grupo 2 (PDT) também demonstrou efeitos satisfatórios, principalmente quanto à redução da lesão, edema e resposta à dor. Além do mais, o grupo PDT apresentou, logo após o grupo laser, a menor medida histológica da área da lesão e as diferenças de medidas entre esses grupos não foram significantes estatisticamente.

Neste sentido, verifica-se que as lesões que foram tratadas com a luz do laser apresentaram melhoras significativas quanto a redução da área da mesma. Em contraste, o grupo controle negativo, cujo tratamento fora realizado somente com água

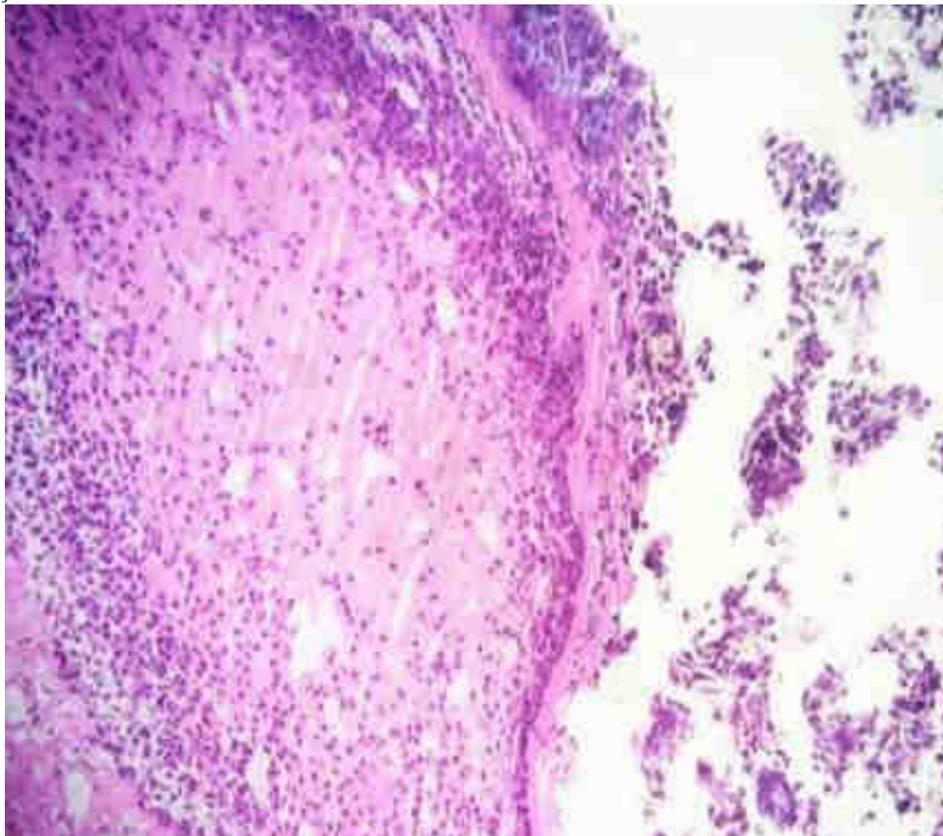
destilada, apresentou um percentual negativo acerca da redução da lesão, o que significa que além desta não ter obtido uma diminuição satisfatória em 24 horas manifestando alto grau de edema e hiperemia, bem como a presença de secreção e dor, também evidenciou um aumento histologicamente da área da lesão.

### **Análise histológica dos grupos (cego)**

#### **GRUPO 1: Laser**

Os cortes histológicos revelam corte de pele com epitélio pavimentoso estratificado paraqueratinizado descontínuo com o conjuntivo em pequena área que apresenta infiltrado inflamatório intenso de caráter misto sub e intraepitelial, podendo ser evidenciados: plasmócitos, linfócitos, eosinófilos e macrófagos. A lâmina própria de tecido conjuntivo denso não modelado exibe o mesmo infiltrado em áreas focais, vasos congestos e migração de células inflamatórias podem ser observados nas glândulas acessórias.

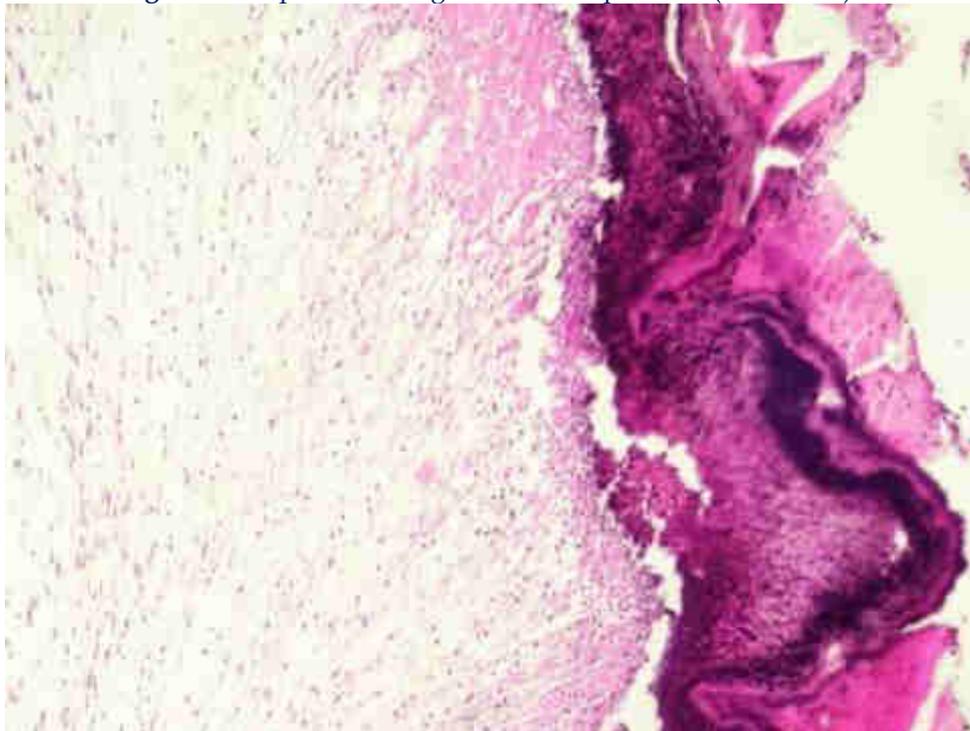
**Figura 1** - Aspecto histológico da lesão após irradiação com laser, evidência à migração leucocitária para o epitélio em formação.



## **GRUPO 2: PDT**

Os cortes histológicos revelam corte de pele com epitélio pavimentoso estratificado paraqueratinizado com área ulcerada, a lâmina própria de tecido conjuntivo denso não modelado apresenta infiltrado inflamatório com presença de linfócitos e plasmócitos que se distribui por todo o tecido bem como subepitelialmente. Vasos congestos e infiltração inflamatória podem ser observados também nas glândulas.

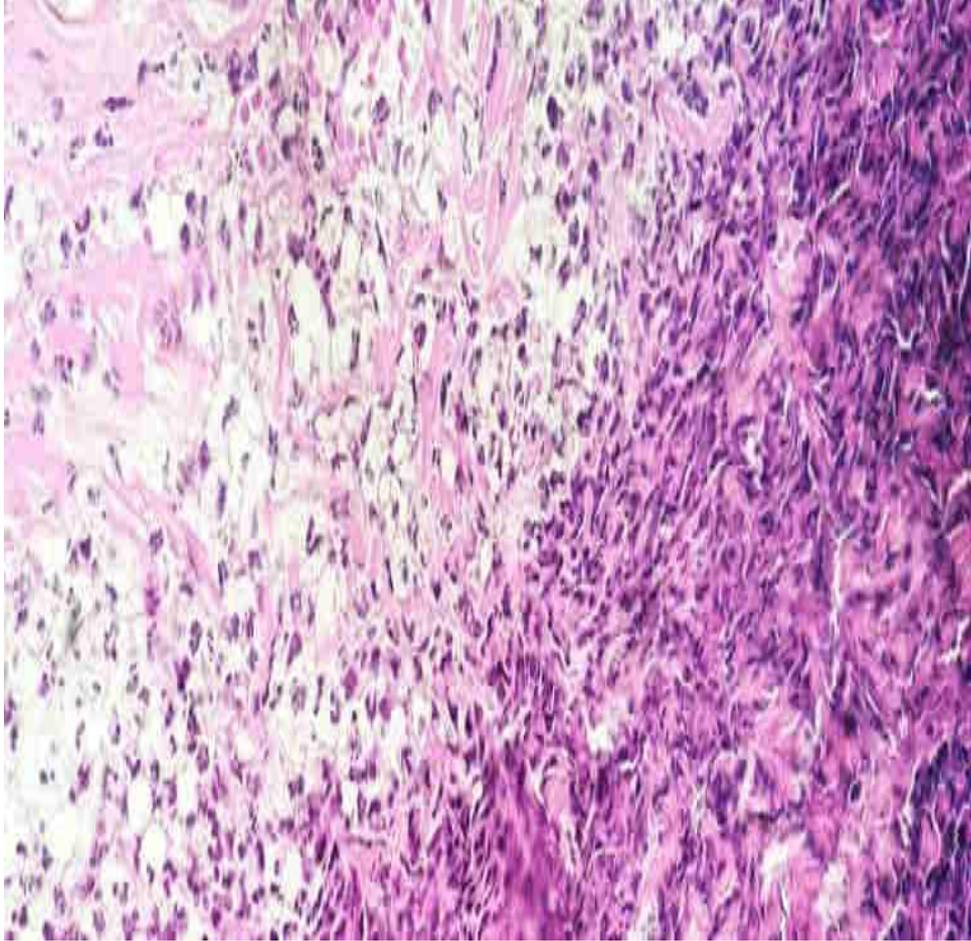
**Figura 2** - Aspecto histológico da lesão após PDT (ilustrativo).



## **GRUPO 3 - CONTROLE POSITIVO**

Os cortes histológicos revelam amostra de pele com epitélio pavimentoso estratificado paraqueratinizado com úlcera extensa em início de processo de reparo, o conjuntivo subjacente é denso do tipo não modelado e apresenta discreto infiltrado inflamatório de caráter misto, sialoadenite e hemorragia, além dos vasos congestos que também podem ser observados.

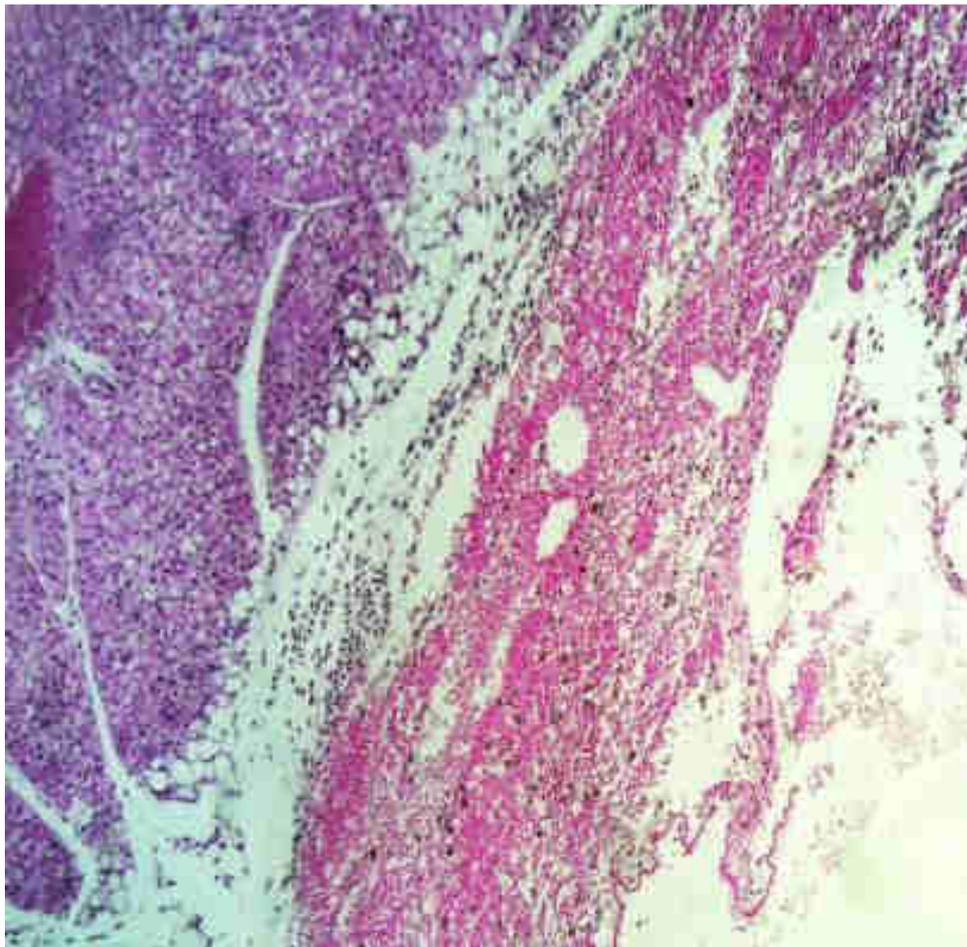
**Figura 3** - Aspecto histológico da lesão após tratamento com fibrase (ilustrativo).



### **GRUPO 3 - CONTROLE NEGATIVO**

Os cortes histológicos revelam tecido epitelial pavimentoso estratificado para-queratinizado descontínuo exibindo extensa área de descontinuidade com o conjuntivo subjacente, este é denso não modelado, apresenta infiltrado inflamatório de moderado a intenso esparsos de caráter misto, exibe intensa hemorragia, incluindo em áreas de epitélio.

**Figura 4** - Aspecto histológico da lesão sem tratamento evidência de hemorragia intensa e migração linfocitária (ilustrativo).



### Infiltrado Inflamatório: Intensidade e percentual de participação das células

**Tabela 6-** Quantidade e tipos de células presentes no infiltrado inflamatório após os diferentes tratamentos (média dos grupos por campo)

Grupos de células por campo	Grupo 1 - laser	Grupo 2 - Laser + Azul de Metileno (PDT)	Grupo 3 - Controle Positivo	Grupo 3 - Controle Negativo
Neutrófilos	2	1	2	31
Eosinófilos	11	2	15	0
Linfócitos	59	74	31	39
Plasmócito	19	26	8	5
Macrófago	11	2	42	23

% de células por campo (grupos de 100 células)

**Tabela 7-** Característica do infiltrado inflamatório

Grupos	Infiltrado Inflamatório
Grupo 1 - Laser	Intenso
Grupo 2 PDT	Moderado
Grupo 3 - Controle Positivo	Discreto
Grupo 3 - Controle Negativo	Moderado-Intenso

A avaliação do infiltrado fora realizada logo abaixo da úlcera. Dessa forma, observou-se que o grupo PDT apresentou um infiltrado linfoplasmocitário, sem representação expressiva de outras formas celulares. Acredita-se que tal fato seja em decorrência do PDT causar estresse oxidativo e, conseqüentemente, efeito direto com ação antimicrobiana. Sendo assim, microrganismos e células que estivessem presentes na lesão, sofreram destruição devido efeito antimicrobiano do PDT, deixando em evidência o motivo pelo qual tal grupo apresentou pequena variedade de células, tendo em maior quantidade linfócitos e plasmócitos características de um infiltrado crônico para ativação de cascatas secundárias. Em contrapartida, no grupo laser foi identificado um infiltrado intenso e misto com a presença de eosinófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos. Neste sentido, pode-se estar diante da principal característica de biomodulação das células de defesa com acréscimo do metabolismo energético (produção de ATP) conforme os estudos de Silva et al (2004).

O laser apresenta-se então como suporte para que o próprio organismo, diante destas reações, contribua para o processo de reparo e cicatrização do tecido lesado, justificando, assim, a presença dos variados glóbulos brancos no grupo laser. Essa intensa migração celular tenderá a reduzir com o passar dos dias conforme o estudo de Carvalho et al (2010) que demonstrou uma redução de células inflamatórias no sétimo dia após o tratamento com laser em roedores que haviam sofrido incisão cutânea no dorso.

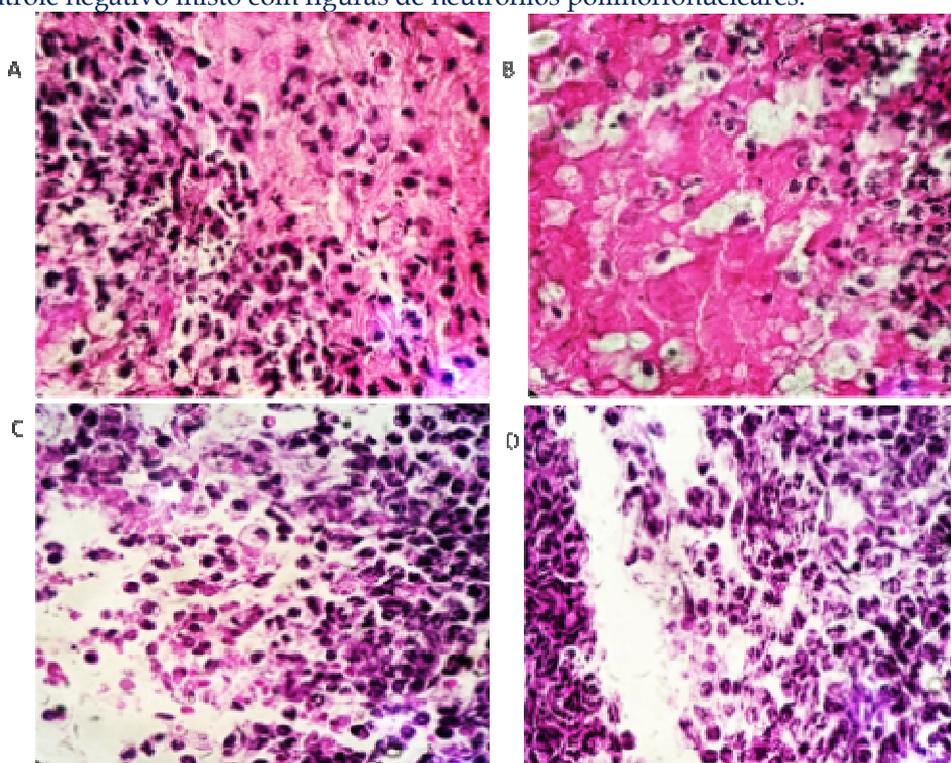
Em relação ao grupo controle positivo, o infiltrado apresentou-se discreto. A fibrase, tratamento utilizado em tal grupo, possui em sua composição o agente clorafenicol cuja ação é antibiótica. Nesta perspectiva, nota-se que a fibrase contribuiu para a diminuta presença de leucócitos, já que a mesma, a partir da sua ação bacteriostática, reduziu o crescimento de microorganismo na área lesionada, sem, entretanto, ser capaz de biomodular uma resposta expressiva de células para a área, entretanto a maior variabilidade celular foi observada nesse grupo.

Quanto ao grupo negativo, fora identificado um infiltrado moderado em transi-

ção para intenso. Por ter sido utilizado como tratamento somente água destilada no respectivo grupo, a resposta inflamatória apresentou-se intensa, de forma a evitar a contaminação do mesmo e contribuir para o processo gradual de reparo e cicatrização, uma vez que nenhuma terapia fora utilizada em tal grupo.

Além disso, também foi observado nos grupos controle positivo e negativo, a presença de hemácias fora dos vasos sanguíneos, o que caracteriza, portanto, hemorragia, não sendo esta identificada nos grupos laser e PDT. A presença de sangue no processo de cicatrização produz os mesmos efeitos negativos do acúmulo de líquidos produzindo dano adicional ao tecido e exarcebando a lesão o que pode caracterizar uma vantagem adicional de técnicas fotoativadas.

**Figura 5** - Aspecto do infiltrado inflamatório após cada tratamento: A= grupo laser misto com figuras de eosinófilos; B= PDT predominantemente linfoplasmocitário; C = Controle positivo misto com ampla variabilidade celular; D = Controle negativo misto com figuras de neutrófilos polimorfonucleares.



Nesta perspectiva, observa-se que ainda que a laserterapia tenha apresentado resultados eficazes no reparo, cicatrização e redução das lesões (46,6%) aqui apresentadas, a terapia fotodinâmica também demonstrou efeitos satisfatórios, principalmente quanto à porcentagem da redução clínica da área da lesão (20%), edema e resposta

à dor. Além do mais, o grupo PDT apresentou, logo após o grupo laser, a menor medida histológica da área da lesão, ficando aquele com uma medida equivalente à 605.11 pixels/cm, e este com 557.08 pixels/cm não havendo estatisticamente diferença entre os dois.

Em contrapartida, os grupos controle positivo e negativo não apresentaram resultados efetivos. Foi verificada uma diminuta redução clínica da área da lesão: 16% no grupo controle positivo e aumento de área no grupo negativo, o que significa que este não obteve uma diminuição satisfatória em 24 horas manifestando alto grau de edema e hiperemia, bem como a presença de secreção e dor. Além disso, fora observado em ambos os grupos o aumento histológico da área da lesão com diferença significativa em relação aos dois grupos sob fotoativação.

Observou-se também que os grupos tratados com luz não apresentaram hemorragia. Entretanto, nos grupos controle positivo e negativo, tratados com outras terapias, fora identificada a presença de hemácias e, portanto, de hemorragia. Sendo assim, observa-se que as terapias realizadas com a luz do laser, foram promissoras quanto à redução das lesões e prevenção de hemorragias.

## **4 CONCLUSÃO**

Verificando-se o efeito da PDT mediada pelo azul de metileno (AM-PDT) sobre a redução de dimensões de feridas induzidas durante o processo de cicatrização/reparo observa-se que esta terapia reduz o tempo clínico, melhora o aspecto e diminui a área de lesão em relação às técnicas convencionais.

A redução das dimensões das feridas diante das diferentes técnicas foi efetiva tendo as técnicas fotoativadas (laser e PDT) apresentado resultados significativos em relação à redução da lesão em 72 horas.

Nesta perspectiva, verifica-se que a terapia fotodinâmica, assim como a lasertterapia, demonstram efeitos promissores no reparo, cicatrização e redução das lesões.

## REFERÊNCIAS

- CARVALHO, Kelsyanne de Castro; NICOLAU, Renata Amadei; MAIA, Antônio Luis Martins; BARJA, Paulo Roxo; SÁ, Hochtávio Pereira de; SANTO, Luanna Anielle Evangelista do; ROCHA, Gilvânia Melo da. Estudo da resistência cicatricial cutânea de ratos tratados com fototerapia a laser *ConScientiae Saúde*, vol. 9, núm. 2, 2010, pp. 179-186 Universidade Nove de Julho São Paulo, Brasil
- HAMBLIN M. R.; HASAN T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci.* 2004 May;3(5):436-50.
- LEITE S. N.; Fototerapia como estímulo à cicatrização de úlceras cutâneas em ratos nutridos e desnutridos. 2009. 116 f. Dissertação (mestrado em bioengenharia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- NÓBREGA, F. J. de O. Estudo histológico da ação do laser e da terapia fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas em ratos tratados com corticóide. 2005. 137f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2005.
- PAOLILLO, F. R.; RODRIGUES, P. G.; CORAZZA, A. V.; PIRES, L.; KURACHI, C.; BAGNATO V. S. **Inativação microbiana com terapia fotodinâmica e pele artificial em ratos.** São Carlos, 2014.
- SILVA J. C. et al. Evaluation of the use of low level laser and photosensitizer drugs in healing. *Lasers Surg. Med.*, New York, v. 34, n. 5, p. 451-457, 2004.



# ESTUDO DA TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT) NA CICATRIZAÇÃO E REPARO DE LESÕES ULCERATIVAS: REVISÃO DE LITERATURA E ESTUDO DE CASO CLÍNICO

Lethicia Barreto Brandão<sup>1</sup>

Ana Rita Pinheiro Barcessat<sup>2</sup>

**RESUMO:** Terapia Fotodinâmica, do inglês *Photodynamic Therapy* PDT é uma modalidade terapêutica utilizada com a finalidade de redução microbiológica e tumoral, trata-se da combinação de um fotosensibilizador (FS) e radiação eletromagnética ao oxigênio tecidual e que gera alto efeito citotóxico local quando excede os limites antioxidantes celulares, levando a célula ou o microorganismo à morte. O presente trabalho realizou uma revisão sistemática da literatura, consolidando os trabalhos que apontam para o uso da PDT com a finalidade de reparo de lesões e seus efeitos sobre os tecidos que contribuem para este propósito. A PDT mediada por azul de metileno e laser vermelho como fonte de luz, foi realizada em quatro casos clínicos, sendo duas feridas por perfuro cortantes, um caso de impetigo e outro de candidíase, procedeu-se cultura bacteriana e/ou fúngica antes e após o procedimento em tempos distintos. As lesões foram medidas e suas áreas calculadas, o percentual de redução das áreas chegou a 80 % no caso do impetigo, variando nos demais casos conforme as características individuais de cada lesão, apresentando assim a PDT efetividade redução bacteriana das lesões tratadas interferindo na evolução clínica de cada uma durante o processo de reparo.

## 1 INTRODUÇÃO

Os altos níveis de estresse oxidativo gerado por essa associação da tríade da PDT, qual seja luz, oxigênio e fotosensibilizador, são capazes de inviabilizar células e microorganismos ativando cascatas de necrose, apoptose e autofagia celular, clinicamente pode apresentar-se como uma alternativa terapêutica promissora para a desinfecção de feridas, porém ainda não está completamente esclarecido um possível efeito coadjuvante para a cicatrização e reparo tecidual.

Em 2007 Sousa realizou um estudo em humanos que avaliou e comparou a sensibilização letal de três periodontopatógenos. Os resultados obtidos nessa pesquisa demonstraram diferenças entre os grupos que se utilizou a terapia fotodinâmica. Os valores percentuais de redução bacteriana do grupo PDT foram de 99,8%, os melhores

---

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2014-2015.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Enfermagem da UNIFAP.

resultados comparados a outras técnicas utilizadas no mesmo estudo, demonstrando a eficácia dessa terapia. (SOUSA, 2007)

Demonstrou-se ainda o efeito incremental da PDT no fator de crescimento e transformação- fator  $\beta 3$  e de metaloproteinases associados ao aumento na organização da matriz dérmica após a utilização em úlceras excisionais de pele humana (MILLS, 2014), efeito clínico similar obteve-se em úlceras na perna por incremento da ativação rápida de fibroblastos (CORSI, 2013).

Estudos em infecções por fungo (*Candida albicans*) em pacientes imunossuprimidos também foram realizados (SCWINGEL et al 2012), a desinfecção de lesões orais tais como abscessos, bolsas periodontais e lesões fistuladas de modo geral têm sido demonstradas e incentivadas (PAULA MG, 2010) e a segurança da técnica em humanos já é ponto pacífico na literatura.

Estudo realizado por Hamblim e Hasan demonstra que existe relatos de PDT utilizados para tratar infecções em modelos animais seleccionadas e de ensaios clínicos: principalmente para lesões virais, mas também para a acne, a infecção por *Helicobacter pylori* gástrico e abscessos cerebrais. E sugerem que as futuras aplicações clínicas incluam estudos voltadas para infecções em feridas e queimaduras, infecções dos tecidos moles e abscessos intratáveis, infecções em cavidades do corpo como a boca, ouvido, seios nasais, da bexiga e do estômago e infecções superficiais da córnea e da pele( HAMBLIN e HASAN , 2004 ).

Os resultados obtidos nessas pesquisas, sugerem que a PDT é uma terapêutica não invasiva e mais seletiva e que não oferece risco de produzir resistência bacteriana, como os antimicrobianos. Além disso, observa-se também que a PDT se destina a evitar bacteremia por manipulação, quando aplicado previamente em regiões com contaminação bacteriana; Visa também preservar a microbiota bacteriana estomacal e intestinal benéficas ao organismo, já que a aplicação do laser e do corante é apenas local; Além do mais, trata-se de uma terapia que pode ser utilizada com segurança em pacientes alérgicos, idosos e debilitados.

Diante destes resultados acredita-se que a PDT pode apresentar resultados promissores em outras situações, tendo ação antimicrobiana em outros tipos de tecido e se mostrando uma alternativa eficaz, contribuindo conseqüentemente para cicatrização e reparo do tecido lesado (HAMBLIN e HASAN, 2004).

## 2 METODOLOGIA

Foi realizado a revisão sistemática a partir de três passos, onde o primeiro consistiu a identificação da necessidade da revisão a partir da formulação da pergunta, os passos precedentes: Estágio I - Planejamento - Passo 1 - identificação da necessidade da revisão e passo 2 - preparação e desenvolvimento do projeto de revisão sistemática, onde foram realizados anteriormente. Os objetivos deste estudo foram: Verificar se a PDT interfere clinicamente no processo de reparo tecidual; Avaliar a evolução clínica de lesões tratadas com terapia fotodinâmica; Identificar na literatura relações da PDT com a cicatrização; Proceder o relato de caso clínico em consonância com a revisão de literatura.

A construção da revisão procedeu da seguinte forma descrita a seguir:

### Estágio II - Execução

Passo 3 - identificação da literatura

Passo 4 - seleção dos estudos

Para identificar os estudos relevantes utilizaram-se pesquisas nas bases de dados eletrônicas (como Medline, Embase, Lilacs, Cochrane Controlled Trials Database, SciSearch etc.), onde foram verificadas as referências bibliográficas dos estudos relevantes.

Passo 5 - avaliação crítica da qualidade dos estudos

Com a avaliação crítica identificaram os estudos válidos para inclusão na revisão, bem como aqueles que não preenchem os critérios de validade.

Passo 6- Submissão ao comitê de ética e aceite para pesquisa, número do projeto aprovado no comitê de ética humano: 45137515.0.0000.0003, (Anexo 1)

Passo 7- Escolha dos casos clínicos e realização terapia fotodinâmica: Após o aceite do comitê de ética humano, iniciou-se a fase da escolha dos casos clínicos, no qual procedeu a aplicabilidade do PDT nos pacientes, realizado por um profissional já formado, juntamente com o acadêmico.

Para escolha dos pacientes, os critérios de inclusão foram:

- Pacientes que concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para a referida divulgação do caso;
- Pacientes com feridas sabidamente contaminadas que necessitaram ser tratadas, cujos critérios foram definidos pelo profissional (Médico, Dentista ou Enfermeiro) responsável bem como escolha por esta modalidade terapêutica.

E como critérios de exclusão, estabeleceu-se:

- Pacientes com doenças de base, como a diabetes, hipertensão;
- Pacientes sabidamente imunodeprimidos: oncológicos em tratamento, soros positivos para HIV e doentes com Aids;
- Pacientes que necessitavam de medicamento sistêmico constante ou esporádico.

Para se avaliar inicialmente o efeito da terapia, optou-se metodologicamente por sua avaliação sem fatores de intercorrência, para num estudo posterior associar o efeito local da técnica em grupo específico de pacientes, mesmo existindo estudos em pacientes nas condições dos critérios de exclusão.

Local de realização: Unidade de Promoção Integral Casa Chico Xavier no âmbito do consultório Odontológico e do ambulatório Médico e de Enfermagem e Unidade Básica de Saúde da UNIFAP.

A decisão pela utilização da terapia fotodinâmica ao invés do procedimento tradicional de desinfecção foi do profissional responsável pelo paciente (Médico, Cirurgião Dentista ou Enfermeiro), visto se tratar de um procedimento já utilizado clinicamente.

Antes do início da terapia foi realizada uma cultura biológica da ferida com a

finalidade de detectar os patógenos envolvidos, a mesma cultura ocorreu logo após a realização da terapia fotodinâmica, no intuito de verificar os patógenos remanescentes.

O procedimento de coleta consiste de uma varredura na ferida, utilizando material descartável, e em seguida semeado o material coletado em meio de cultura para bactérias, ágar sangue e para fungos o agar sabouraud e encaminhado a um laboratório terceirizado.

As lesões foram fotografadas antes, durante e após o procedimento 24 e 48 horas, sendo medidas também em seu maior diâmetro e largura em seguida sendo calculada a área inicial para comparar com a área final.

Descrição da técnica em pacientes: A técnica consiste de: Lavagem (com solução fisiológica 0,09 %) e secagem da lesão (com compressas de gaze) quando possível. Gotejamento da solução comercial de azul de metileno 0,01% (Chimiolux , Brasil ) por cinco minutos , retirada o excesso da solução, irradiação da lesão com laser vermelho nos parâmetros especificados na tabela 1.

**TABELA 1-** Parâmetros da fonte de Luz laser

Comprimento de onda $\lambda$ (nm)	660
Potência (mW)	40
Energia (J/ponto)	3,6
Densidade de energia por ponto (J/cm <sup>2</sup> )	90
Área do ponto (cm <sup>2</sup> )	0,04
Tempo por ponto (min)	1,5
n° de irradiações	1
N° de pontos irradiados	2
Densidade de potência mW/cm <sup>2</sup>	1000

Parâmetros experimentados previamente com a finalidade de ativação de cascata de morte celular (BARCESSAT AR *et al* 2013 )

Passo 8 - extração dos dados e monitorização do progresso

As variáveis de cada estudo, as características da metodologia e dos participantes (estudos com PDT) e os desfechos clínicos (avaliação de efeitos teciduais) foram registrados e resumidos. A avaliação desses parâmetros permitiu a comparação ou não dos estudos selecionados.

#### Passo 9 - Síntese dos dados

O agrupamento dos estudos selecionados foi baseado na semelhança entre eles. Foram determinadas a força da evidência encontrada e a aplicabilidade dos resultados.

Os resultados laboratoriais foram sintetizados, por se tratar de amostra pequena de no máximo cinco feridas. O percentual de redução da lesão foi calculado pela diferença de área da ferida em cada tempo experimental 24 e 48 horas após o procedimento.

#### Estágio III - Apresentação e divulgação

Passo 10 - transferência das evidências para a prática clínica.

### **3 RESULTADOS**

O processo envolvido na reparação tecidual após a ocorrência de uma injúria, seja ela traumática ou proposital tem sido objeto de estudo de muitos pesquisadores nos últimos anos. Segundo Pinto et al. (1997) o processo de cicatrização envolve três eventos: sendo o primeiro a formação de tecido de granulação cicatricial; o segundo é a contração da ferida; e por último a indução epitelial. Nesse processo, encontra-se a PDT como alternativa para o reparo tecidual, na qual a reação é proveniente de três condições essenciais: o oxigênio molecular, a droga fotossensibilizadora e uma fonte luminosa de grande intensidade.

De acordo com Rodrigues (2014), a PDT é recorrente da interação fotoquímica entre o agente fotossensibilizador e o O<sub>2</sub>, mediada pela irradiação leva à produção de oxigênio (O<sub>2</sub>) e outras espécies reativas de oxigênio (ROS), tal como o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), o radical hidroxilo (HO). As ROS, produzidas localmente no tecido irradiado, são responsáveis por danos oxidativos em biomoléculas e estruturas celulares chave, podendo conduzir à morte celular do tecido alvo, por apoptose, necrose ou autofagia.

A PDT normalmente origina uma reação inflamatória aguda local, com mobili-

zação de células do sistema imunitário tais como células dendríticas e neutrófilos, que promovem a remoção de células mortas e a restauração da homeostasia do tecido afetado. Esta reação inflamatória não específica pode posteriormente levar ao desenvolvimento de uma resposta imunológica. (RODRIGUES,2014.)

A Terapia Fotodinâmica para a inativação de microorganismos, provoca modificações na integralidade cutânea, particularmente, quando as úlceras/lesões se encontram infectadas, apresentam-se, muitas vezes, como obstáculo para a saúde pública em decorrência da dificuldade de cicatrização, da resistência aos medicamentos, dos efeitos colaterais ao paciente e, conseqüentemente, da qualidade de vida reduzida para este (PAOLILLO, 2014).

Em decorrência das limitações das terapias convencionais para a descontaminação e consequência regeneração tecidual, a utilização de novos métodos alternativos poderá contribuir para a realização de tais processos (PAOLILLO, 2014).

Nesta perspectiva, o PDT apresenta-se como técnica alternativa voltada, principalmente, para a descontaminação de feridas (NÓBREGA, 2005). Tal processo consiste em gerar dano seletivo às células. Nesta técnica, a fonte de luz derivada do laser atinge o fotossensibilizador presente nos tecidos, transferindo energia para o oxigênio molecular, resultando em espécies reativas de oxigênio, que leva à morte celular ou de microorganismos (PAOLILLO, 2014).

Além de apresentar efeitos antimicrobianos amplamente reconhecido, o PDT tem demonstrado resultados promissores em relação ao processo de cicatrização de feridas cutâneas (NÓBREGA, 2005). Tais evidências tem sido apontada por estudos, como o de Espinosa (1999), que buscou analisar o processo de reparação de feridas cutâneas de ratos submetidas ao tratamento com um fotossensibilizador associada ou não com laser de baixa intensidade. Diante dos resultados apresentados, observou-se que as feridas tratadas com PDT evidenciaram processo de reparação mais eficaz em relação ao grupo cujo as feridas foram tratadas somente com laser e ao grupo que não apresentou nenhum tratamento.

Silva et al. (2004) também avaliou a utilização do laser e de drogas fotossensibilizadoras na cicatrização de feridas em ratos. Após a realização de feridas nos animais, estes foram divididos em 6 grupos: 1. controle (não tratado); 2. base de gel; 3. droga fotossensibilizadora; 4. laser; 5. laser em associação com droga fotossensibilizadora (PDT); e 6. laser associado à droga fotossensibilizadora e à base de gel. De acordo com os resultados, notou-se que a associação entre o laser, o fotossensibilizador e gel, apresentaram maior eficácia no reparo tecidual.

Destarte, o PDT apresenta inúmeras vantagens, dentre as quais observa-se a ausência de efeitos secundários graves, sendo também um tratamento não invasivo e cujo a repetição do tratamento pode ser realizada não resultando em toxicidade cumulativa. Além disso, o PDT não interfere, não danifica e nem causa mudanças bruscas nos tecidos (RODRIGUES, 2014).

Nesta perspectiva, muitos são os estudos que apontam a PDT como mecanismo efetivo e promissor em relação à redução bacteriana, além de servir como ferramenta coadjuvante no reparo tecidual. Elencamos em tabela os estudos que evidenciam o PDT como mecanismo para o reparo tecidual:

**TABELA 2** - Estudos utilizados para revisão bibliográfica, divididos em tipo de estudo (humano, animal, etc.); Autores e ano de publicação e efeito da PDT.

TIPO DE ESTUDO	AUTOR E ANO	QUAL A AÇÃO DA PDT
Tecido humano (ulceras de pressão por insuficiência venosa)	Corsi A, Lecci PP, Bacci S, Cappugi P, Pimpinelli N; 2014	Os achados corroboram a função primária de fibroblastos no processo de cicatrização de feridas após tratamento da PDT.
Tecido humano (feridas cutâneas)	Mills SJ, Farrar MD, Ashcroft GS, Griffiths CE, Hardman MJ, Rhodes LE; 2014.	Os achados demonstram um aumento na produção de fatores de crescimento, como: B3, concluindo que o PDT favorece na cicatrização, pois ajuda na melhor aderência a matriz dérmica
Ratos (feridas cutâneas)	Nóbrega F.J; 2005	Os achados evidenciam a presença de fibroblastos, macrófagos e linfócitos na ferida tratada com PDT, afirmando que a mesma promoveu reparação tecidual mais diferenciada e evoluída.
Ratos (feridas cutâneas)	Paolillo F.R.; Rodrigues P.G.; Corazza A.V.; Pires L.; Kurachi C.; Bagnato V.S; 2014	Os achados corroboram na redução bacteriana nas feridas tratadas com PDT, concluindo que essa terapia pode promover a desinfecção das feridas para cicatrização tecidual.
In vitro	Rodrigues D.F. da S.L; 2014	Os achados identificam a funcionalidade e o efeito positivo da PDT em associação com diferentes fotossensibilizadores.
Tecido humano (pacientes HIV com candidíase)	Scwingel AR, Barcessat AR, Núñez SC, Ribeiro MS; 2012	Os achados demonstram que a PDT foi 100% efetiva na eliminação de colônias.

## 4 CASOS CLÍNICOS

### I Caso clínico: Lesão perfuro cortante em membro inferior

O primeiro caso clínico trata-se do paciente L.P.C, de 20 anos de idade, que apresentava uma lesão no membro inferior direito, sem doenças de base, conforme os critérios de inclusão e exclusão, cortou-se com objeto perfuro-cortante, passou uma semana sem realizar cuidados na ferida. Foi realizada a coleta para o exame de cultura e verificação das mensurações da ferida antes da aplicação do PDT. No que diz respeito ao exame de cultura foi identificado *Streptococcus* sp, a ferida possuía 0,65 cm<sup>2</sup> de área. Após 24 h da realização da PDT foi coletado um novo material e encaminhado para análise clínica, no qual se identificou *Algaligenes* sp. A ferida apresentou uma diminuição, passou a medir 0,52 cm<sup>2</sup>. Na figura 1 é possível observar a ferida antes de ser submetida a terapia e 48 horas após a aplicação da PDT. Observa-se o remanescente do fotosensibilizador nas bordas da lesão mesmo 48 horas após o procedimento.

**FIGURA 1-** Pré-PDT e pós-PDT do I caso clínico. A figura **A** representa a ferida antes de ser submetida a terapia e a figura **B** ilustra a ferida 48 horas após a aplicação.



## II Caso clínico: Lesão perfuro cortante em falange direita

O segundo caso clínico trata-se do paciente O. F. C., de 41 anos de idade, que apresentava uma ferida no membro superior direito (III falange), sem doenças de base, conforme os critérios de inclusão e exclusão, cortou-se com objeto perfuro-cortante. Foi realizada a coleta para o exame de cultura e verificação das mensurações da ferida antes da aplicação do PDT. No que diz respeito ao exame de cultura foi identificado *Streptococcus sp*, ferida possuía uma área de 11,9 cm<sup>2</sup>. Após a realização da PDT foi coletado um novo material e encaminhado para análise clínica, no qual se identificou *Streptococcus sp*. A ferida apresentou uma diminuição em sua área, que passou a medir 10,23 cm<sup>2</sup>. Na figura 2 é possível observar a ferida antes de ser submetida a terapia e 48 horas após a aplicação da PDT.

**FIGURA 2-** Pré-PDT e pós-PDT do I caso clínico. A figura A representa a ferida antes de ser submetida a terapia e a figura B ilustra a ferida 48 horas após a aplicação.



### III Caso clínico: Impetigo

O terceiro caso clínico trata-se do paciente J. D. F., de 2 anos de idade (incompletos), que apresentava uma ferida na região do rosto, filtro labial superior e outra ferida na orelha esquerda, diagnosticada clinicamente como impetigo, a médica e a cirurgiã dentista responsáveis optaram pela terapia fotodinâmica em função da idade do paciente numa tentativa de minimizar ou suprimir o uso de antibióticos. À cultura de bactérias foram identificados *Staphylococcus aureus* e o *Streptococcus pyogenes*. A ferida no lábio superior possuía 6,4cm<sup>2</sup> de área. Após a realização da PDT foi coletado imediatamente um novo material e encaminhado para análise clínica, o qual não apresentou o crescimento de bactérias na cultura. A ferida no lábio superior apresentou 0,8 cm<sup>2</sup> de área após a PDT. Na figura 4 é possível observar a ferida antes de ser submetida a terapia e durante a aplicação da PDT e após a PDT.

**FIGURA 3-** Aspecto clínico inicial da ferida do III caso clínico



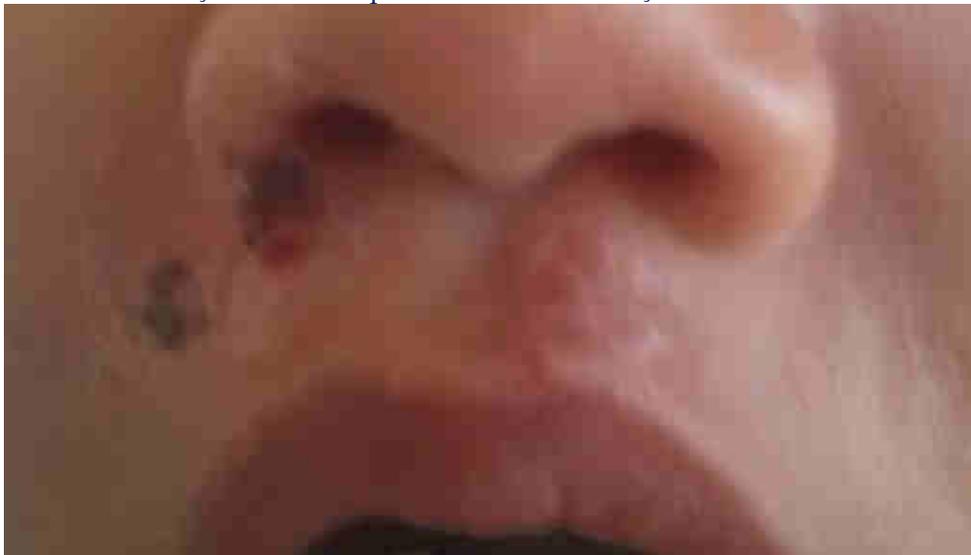
**FIGURA 4-** Aspecto clínico já com azul de metileno



**FIGURA 5-** Aspecto clínico da aplicação do azul de metileno.



**FIGURA 6-** Evolução da ferida após 24 horas da realização da PDT do III caso clínico.



Na terceira tabela é possível identificar as mensurações dos três casos clínicos em diferentes tempos, o pré- PDT, 24 horas e 48 horas após a realização da PDT:

**TABELA 3-** mensurações dos casos clínicos em diferentes tempos. A primeira linha demonstra a evolução das mensurações em diferentes tempos (pré- PDT, 24 horas e 48 horas após a realização da PDT) do I caso clínico, as linhas subsequentes seguem o mesmo padrão demonstrando a evolução das feridas quanto aos seus tamanhos.

Casos clínicos	Area da ferida pré- pdt	Area da ferida após 24 horas	Área da ferida após 48 horas	% total da redução da ferida
I Caso clinico : (membro superior)	0,65cm <sup>2</sup>	0,52cm <sup>2</sup>	0,52cm <sup>2</sup>	20%
II Caso clinico: (falange)	11,9cm <sup>2</sup>	11,05cm <sup>2</sup>	10,23cm <sup>2</sup>	14,08%
III Caso clinico (Lábio superior)	6,4 cm <sup>2</sup>	4,5cm <sup>2</sup>	0,8cm <sup>2</sup>	87,5%

#### IV Caso clínico ilustrativo: Candidíase oral e mucosite

Trata-se de um caso clínico ilustrativo do efeito da PDT em infestações fúngicas com coleta imediatamente após o procedimento, para caracterizar o tempo oportuno do efeito da terapia.

Paciente M. C. G., de 65 anos de idade, acometido de mucosite oral associada à infestação fúngica por *Cândida albicans* identificada clínica e laboratorialmente antes do procedimento. A PDT foi realizada nos parâmetros estabelecidos e nova cultura realizada imediatamente após o procedimento confirmando 100% de eliminação das colônias repetindo resultados encontrados por Scwingel AR, Barcessat AR, Núñez SC, Ribeiro MS, 2012.

FIGURA 7- Aspecto clínico inicial da candidíase oral associada à mucosite



FIGURA 8- Aspecto clínico da aplicação do azul de metileno seguida da irradiação pelo laser vermelho em candidíase oral .

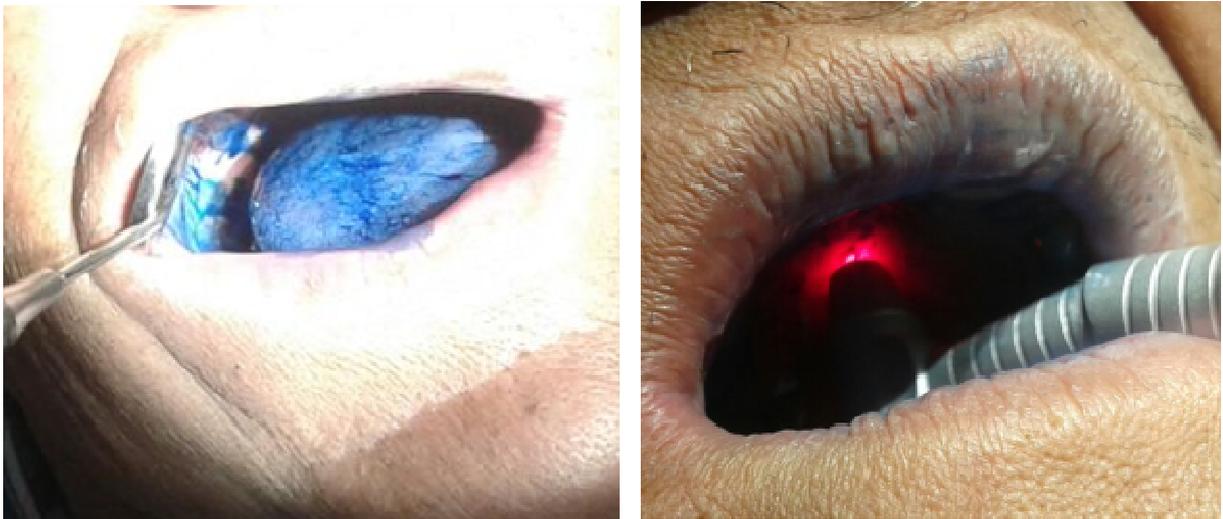


FIGURA 9- Aspecto clínico 24 horas após a PDT em caso de infestação por *Cândida albicans* e mucosite oral.



O caso acima caracteriza evidência da efetividade da terapêutica para a redução fungica com 100% de redução das colônias em cultura que não apresentaram crescimento.

## 5. DISCUSSÃO

Na avaliação dos casos clínicos, percebeu-se que em dois deles não ocorreu o crescimento de bactérias e fungos e que nos outros dois casos clínicos, o crescimento bacteriano apontado no exame de cultura é proveniente de uma recontaminação, já que em um dos casos foi apontada uma nova bactéria, divergindo com a encontrada no primeiro exame, e por se tratar de uma bactéria corriqueira leva-se a acreditar numa nova contaminação.

Na análise dos resultados microbiológicos obtidos a partir da cultura bacteriana em dois casos desse estudo, foi observado crescimento de colônias bacterianas nos casos em que se aguardou 24 horas para nova coleta como nos estudos de Paolillo et al., porém o fato de haver um único tipo bacteriano crescendo após a terapia pode levar a dois tipos de raciocínio, sendo o primeiro de que a ferida do caso 1 pode ter sido contaminada pelo *Alcaligenes sp*, por se tratar de uma bactéria encontrada na

microbiota intestinal, ela pode ser eliminada na fezes, levando a acreditar que pode ter ocorrido uma nova contaminação, decorrente da má higienização do paciente principalmente por se tratar de uma bactéria que não havia sido identificada inicialmente e ainda ser diversa daquela encontrada no primeiro exame. E o segundo raciocínio é que a PDT não se demonstrou efetiva na descontaminação, o que desacorda com toda a literatura pesquisada. No estudo realizado pelo Garcez et al (2011) todos os microrganismos examinados na PDT geraram morte microbiana, pois as células apresentaram um aumento da dose de peróxido de hidrogênio, que é um componente importante para liberação de macrófagos, o que conseqüentemente ajudará o processo de cicatrização.

Os casos clínicos em que se aguardou para fazer a segunda coleta apresentaram crescimento bacteriano e aqueles em que se coletou de imediato não apresentaram crescimento o que será considerado como um viés metodológico do trabalho, porém quando analisada a mensuração e o aspecto geral das feridas, observa-se uma melhora clínica considerável, nas feridas num curto intervalo de tempo. Isso pode ser atribuído a efetividade da PDT na indução da citotoxicidade celular bacteriana ou ainda a possíveis efeitos da luz laser sobre o tecido. Para Nobrega (2005) o laser de baixa potência estimula a ação mitocondrial, onde há a recepção da luz a partir de receptores componentes da cadeia respiratória celular e, a partir disso, intensifica o metabolismo respiratório resultando em um equilíbrio da fisiologia celular, o que poderia ajudar a entender essa melhora no aspecto clínico das feridas, já que algumas feridas apresentaram melhoras correspondente a 60% ou mais do seu tamanho inicial, entretanto, continua-se a apostar na ação anti microbiológica por estresse oxidativo da PDT e o crescimento bacteriano por recontaminação uma vez que os casos em que foram colhidas as amostras imediatamente após o procedimento não apresentaram crescimento bacteriano ou fúngico, o caso do impetigo e da candidíase respectivamente, o que sugere a efetividade da terapêutica para ser aplicada em sessões com intervalos de 24 a 48 horas para ação antimicrobiana com o intuito de conter a recontaminação até o fe-

chamento da ferida .

A PDT apresentou efetividade nas reduções das áreas das feridas, para Paolillo et al. (2014) a redução das feridas por PDT pode ter associação ao fato da rede vascular como o epitélio e o tecido conjuntivo localizado nas bordas da ferida absorva com efetividade a droga fotossensibilizadora, neste caso o azul de metileno, contribuindo, dessa forma, para promoção de maior absorção da luz laser utilizada e, conseqüentemente, maior efeito biológico, essa retenção pode ser claramente observada na figura 1 - B no caso clínico I .

A grande redução no tamanho da ferida (acima de 80 %), bem como o aspecto clínico de evidente melhora, demonstrado no caso clínico III de impetigo, pode ser atribuído também à idade do paciente, 2 anos incompletos, critério clínico utilizado pelos profissionais responsáveis pelo caso para a opção pela terapia ao invés da utilização de antibióticos. As variações nos percentuais de redução estão de acordo com cada caso e com variabilidades de condições de saúde de cada indivíduo.

Nesta perspectiva, observa-se que os estudos apontam a PDT como mecanismo efetivo e promissor em relação à redução bacteriana e como ferramenta coadjuvante no reparo tecidual, respectivamente.

## **6. CONCLUSÃO**

De acordo com a pesquisa seus objetivos e nas condições metodológicas deste trabalho, quando avaliado o aspecto clínico e o percentual de redução das feridas, evidencia-se o sucesso da terapia, já que todas as feridas apresentaram algum tipo de redução, seja em sua largura ou comprimento, assim como na melhoria do seu aspecto clínico interferindo efetivamente a PDT no processo de reparo no sentido de reduzir o tempo clínico necessário a esse processo.

Pode-se afirmar que a evolução clínica das lesões tratadas com terapia fotodinâmica é efetiva com a redução de microorganismos patogênicos interferindo a técnica de forma contundente no aspecto clínico de feridas durante o processo de repara-

ção tecidual.

Diante dos achados bibliográficos, a PDT é apontada como terapia promissora na descontaminação de feridas, e associada ao reparo tecidual, devido sua capacidade de inviabilizar células e microorganismos ativando cascatas de necrose, apoptose e autofagia celular.

Nessa perspectiva, o estudo demonstrou que a PDT apresenta indícios positivos no processo de cicatrização e reparo tecidual. Novas pesquisas devem ser desenvolvidas a fim de conhecer melhor o efeito tecidual em relação à migração de células de defesa ou ativação de cascatas imunológicas como possíveis vantagens agregadas dessa modalidade terapêutica.

## REFERÊNCIAS

- Barcessat AR, Huang I, Rosin FP, dos Santos Pinto D Jr, Maria Zezell D, Corrêa L. Effect of topical 5-ALA mediated photodynamic therapy on proliferation index of keratinocytes in 4-NQO-induced potentially malignant oral lesions. *J Photochem Photobiol B*. 2013 Sep 5;126:33-41.
- Corsi A, Lecci PP, Bacci S, Cappugi P, Pimpinelli N. Early activation of fibroblasts during PDT treatment in leg ulcers. *G Ital Dermatol Venereol*. 2014 Jun 13.
- Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci*. 2004 May;3(5):436-50.
- Mills SJ, Farrar MD, Ashcroft GS, Griffiths CE, Hardman MJ, Rhodes LE. Topical photodynamic therapy following excisional wounding of human skin increases production of transforming growth factor- $\beta$ 3 and matrix metalloproteinases 1 and 9, with associated improvement in dermal matrix organization. *Br J Dermatol*. 2014 Jan 28.
- Nóbrega F.J. de O. Estudo histológico da ação do laser e da terapia fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas em ratos tratados com corticóide. 2005. 137f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 2005.
- Paolillo F.R., Rodrigues P.G., Corazza A.V., Pires L., Kurachi C., Bagnato V.S. Inativação microbiana com terapia fotodinâmica e pele artificial em ratos. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica - CBEB 2014.
- Rodrigues D.F. da S.L. Estudo da Atividade Biológica in vitro de Moléculas Fotosens-

sibilizadoras para Terapia Fotodinâmica. 2014. 84f. Dissertação (Mestrado em bioquímica) - faculdade de ciências e tecnologia universidade de coimbra, 2014.

Scwingel AR, Barcessat AR, Núñez SC, Ribeiro MS. Antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of oral candidiasis in HIV-infected patients. *Photomed Laser Surg.* 2012 Aug;30(8):429-32.

SILVA J.C. et al. Evaluation of the use of low level laser and photosensitizer drugs in healing. *Lasers Surg. Med., New York*, v. 34, n. 5, p. 451-457, 2004.

Universidade Federal de São Paulo- UNIFESP Princípios Éticos e Práticos do uso de Animais de Experimentação.2005.

PINTO, L.P. et al. *Patologia basica.* Natal: Editora da UFRN, 1997. 186p.



# ESTUDO DO EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA COM AZUL DE METILENO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO E REPARO DE LESÕES INDUZIDAS EM MODELOS DE ROEDORES

Taynara Camille Guilherme Lima<sup>1</sup>

Ana Rita Pinheiro Barcessat<sup>2</sup>

**RESUMO:** A terapia fotodinâmica do inglês *PhotodynamicTherapy- PDT* é uma técnica secular baseada na interação da luz visível, uma molécula fotosensível e oxigênio tecidual, capaz de gerar altos índices de estresse oxidativo pelas espécies reativas de oxigênio, que libera e que são capazes de inviabilizar células e microorganismos tendo como alvo várias organelas e substratos celulares e acelulares, tem sido assim utilizada nos tecidos biológicos para fins diversos a depender da molécula fotosensibilizadora, dentre eles o de descontaminação de feridas e superfícies bem como redução tumoral, para fins antimicrobianos o principal fotosensibilizador é o azul de metileno. O presente estudo se propôs a verificar o efeito da PDT mediada pelo azul de metileno sobre a redução de dimensões de feridas induzidas em modelos de roedores durante o processo de cicatrização/reparo. Os animais foram aleatoriamente agrupados e tratados através de pomada de clorafenicol, fibrinolisina, desoxirribonuclease ou Fibrase; Laser vermelho; PDT, utilizando-se o mesmo laser como fonte de ativação, porém com 5 minutos de aplicação prévia de azul de metileno 0,05%; Azul de Metileno; E água destilada. As lesões foram medidas linearmente e em profundidade e fotografadas antes e nos tempos experimentais de 24 e 72 horas após os tratamentos, sendo realizado, posteriormente, o exame histopatológico dos espécimes no tempo experimental de 72 horas. A partir dos resultados, observou-se que a laserterapia apresentou resultados eficazes em relação aos demais grupos quanto aos parâmetros avaliados, como avaliação visual, redução da medida clínica (39,63%) e medida histológica (1.840 pixels/cm). A terapia fotodinâmica também demonstrou efeitos satisfatórios, principalmente quanto à medida histológica da área da lesão (37.200 pixels/cm) e presença de secreção, apresentando resultados bem semelhantes ao grupo controle positivo, cujo destaque foi, principalmente, em relação à redução da medida clínica (24,02%). Em contraste, os grupos azul de metileno e controle negativo, demonstraram pouca melhora quanto a todos os aspectos avaliados, de forma os mesmos não apresentaram diferenças estatisticamente significativa entre si quanto a redução clínica e medida histológica da lesão. Nesta perspectiva, verifica-se que a terapia fotodinâmica, assim como a laserterapia demonstram efeitos promissores no reparo, cicatrização e redução das lesões com respectivas equivalência e superioridade ao tratamento convencional com a fibrase o que pode ser interessante do ponto de vista de um protocolo de associação de técnicas.

---

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Enfermagem da UNIFAP.

## 1 INTRODUÇÃO

**M**odificações na integralidade cutânea, particularmente, quando as úlceras/lesões encontram-se infectadas, apresentam-se, muitas vezes, como obstáculo para a saúde pública em decorrência da dificuldade de cicatrização, da resistência aos medicamentos, dos efeitos colaterais ao paciente e, conseqüentemente, da qualidade de vida reduzida para este. Sendo assim, devido às limitações encontradas nas terapias convencionais para a descontaminação e conseqüente regeneração tecidual, a utilização de novos métodos alternativos se fazem necessários (PAOLILLO, 2014).

Nesta perspectiva, a PDT apresenta-se como técnica alternativa voltada, principalmente, para a descontaminação de feridas, cujos altos níveis de estresse oxidativo gerado por meio da associação da tríade da PDT, qual seja luz, oxigênio e fotosensibilizador, são capazes de inviabilizar células e microorganismos ativando cascatas de necrose, apoptose e autofagia celular (NÓBREGA, 2005).

De acordo com Hamblim e Hasan (2004), existem relatos de PDT utilizados para tratar infecções em modelos animais selecionados e de ensaios clínicos, principalmente para lesões virais, mas também para a acne, infecções por *Helicobacter pylori* gástrico e abscessos cerebrais. Sugerem ainda que as futuras aplicações clínicas incluam estudos voltados para infecções em feridas e queimaduras, infecções dos tecidos moles e abscessos intratáveis, infecções em cavidades do corpo como a boca, ouvido, seios nasais, da bexiga e do estômago e infecções superficiais da córnea e da pele.

Os resultados descritos na literatura, sugerem que a PDT é uma terapêutica não invasiva e mais seletiva e que não oferece risco de produzir resistência bacteriana, como os antimicrobianos. Além disso, observa-se também que a PDT destina-se a evitar bacteremia por manipulação, quando aplicado previamente em regiões com contaminação bacteriana. Visa também preservar a microbiota bacteriana estomacal e intestinal benéficas ao organismo, já que a aplicação do laser e do corante é apenas local; Além do que, trata-se de uma terapia que pode ser utilizada com segurança em paci-

entes alérgicos, idosos e debilitados (NÓBREGA, 2005).

Além de apresentar efeitos antimicrobianos amplamente reconhecido, a PDT tem demonstrado resultados promissores em relação ao processo de descontaminação de feridas cutâneas e, conseqüentemente, reparo destas, sendo este último evento caracterizado pela substituição do tecido lesado ou ainda, morto, por células provenientes do parênquima ou do tecido conjuntivo danificado (PAOLILLO, 2014).

Tais evidências têm sido apontadas por estudos, como o de Nóbrega (2005) que avaliou, histologicamente, a ação do laser, bem como da PDT no processo de reparo de feridas induzidas em ratos tratados com corticoides. Ao final, verificou-se que o grupo tratado com PDT apresentou respostas mais eficazes no tratamento, cuja reparação do tecido mostrou-se bem mais diferenciada e evoluída, comparada aos demais grupos.

Diante desses resultados, acredita-se que a PDT pode apresentar resultados promissores em outras situações, tendo ação antimicrobiana em outros tipos de tecido e se mostrando uma alternativa eficaz, contribuindo conseqüentemente para cicatrização e reparo do tecido lesado (HAMBLIN; HASAN, 2004).

Sendo assim, o presente estudo teve como finalidade verificar o efeito da PDT mediada pelo azul de metileno (AM -PDT) sobre a redução de dimensões de feridas induzidas em modelos de roedores durante o processo de reparo.

## **2 MATERIAL E MÉTODO**

### Indução da ferida

Trinta e três úlceras foram induzidas no dorso de camundongos da espécie *Mus musculus*, Família Muridae, Raça swiss, machos. As lesões foram induzidas, utilizando como instrumento um punch de dimensões 6x6x3 mm de altura, largura e profundidade, respectivamente, sob anestesia geral no dorso dos animais precedida de tricotomia com instrumento apropriado e descartável.

Estes animais foram aleatoriamente divididos nos grupos descritos a seguir

Grupos experimentais

A tabela 1 demonstra a distribuição dos animais, sendo todos submetidos sob às mesmas condições experimentais.

**Tabela 1** - Distribuição dos animais em função dos grupos, Lesões tratadas/tempo experimental.

GRUPO	Nº DE LESÕES TRATADAS TEMPO 24H
CN <sup>1</sup> água destilada	N= 6
CP <sup>2</sup> fibrase	N= 6
G PDT associação luz + corante	N= 7
G Azul de Metileno	N= 7
G laser	N= 7
Total	33

<sup>1</sup>CN - controle negativo; <sup>2</sup> CP - Controle positivo; GPDT

**a) Grupo PDT (N= 7):** Os animais foram previamente anestesiados com injeção intraperitoneal de quetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). Após confirmação de sedação profunda foi gotejado azul de metileno 0,01% que permaneceu sobre a ferida por 5 minutos, ao ser retirado o excesso procedeu-se a irradiação com laser vermelho cujos parâmetros encontram-se na demonstrados na tabela 2.

**Tabela 2** - Parâmetros da fonte de Luz laser

Comprimento de onda $\lambda$ - (nm)	660
Potência (mW)	40
Energia (J/ponto)	3,6
Densidade de energia por ponto (J/cm <sup>2</sup> )	90
Área do ponto (cm <sup>2</sup> )	0,04
Tempo por ponto (min)	1,5
nº de irradiações	1
Nº de pontos irradiados	2
Densidade de potência mW/cm <sup>2</sup>	1000

Fonte: BARCESSAT, A. R, et al. (2013).

Parâmetros experimentais previamente testados com a finalidade de ativação de cascata de morte celular em PDT.

**b) Grupo Laser- Glaser (N= 7):** As lesões receberam somente irradiação de laser vermelho como meio de tratamento, de forma que as feridas foram irradiadas nos mesmos parâmetros que o grupo PDT, sem tratamento prévio com azul de metileno.

**c) Grupo Azul de Metileno (N= 7):** As lesões foram tratadas com azul de metileno 0,01% que permaneceu sobre a ferida durante 5 minutos, sendo, posteriormente,

retirado o excesso.

**d) Grupo controle positivo (N= 6):** As lesões foram tratadas com pomada de clorafenicol, fibrinolisinase, desoxirribonuclease – fibrase.

**e) Grupo controle negativo (N= 6):** As lesões foram somente lavadas com água destilada.

O Biotério do Laboratório de Toxicologia da Universidade Federal do Amapá forneceu os animais, que foram alimentados com ração comercial (Labina®, Purina, Bayer, Brasil) e com água *ad libitum*, submetidos a ciclos de 12 horas de claro e escuro e mantidos em gaiolas individuais durante todo o experimento.

#### Monitoração das lesões, Eutanásia e retirada do material de análise

As lesões foram fotografadas e medidas sob sedação, por um examinador alheio ao protocolo experimental (de forma cega) com um paquímetro (medidas lineares) e com uma sonda milimetrada (medida em profundidade) em 24, 48 e 72 horas após o tratamento, neste tempo houve a eutanásia dos animais e, posteriormente, a necropsia. Os animais de todos os grupos sofreram eutanásia por superdosagem anestésica.

A área do dorso necropsiada foi seccionada longitudinalmente e fixada em paraformaldeído a 20% em solução tampão de fosfato de sódio dibásico anidro e monobásico de pH 7,0, preparada no mesmo dia da utilização e os fragmentos foram enviados para processamento histológico.

#### Preparo e análise histopatológica

O material foi fixado, aproximadamente, 24h e no máximo 48h, a partir do que foi seccionado no plano sagital mediano e processado para inclusão em parafina. Primeiramente foram realizados 2 banhos de 10 minutos na solução tampão do formol (fosfato de sódio dibásico anidro e monobásico) e, a seguir, para iniciar a desidratação do tecido, as peças foram imersas em banhos crescentes de etanol (do etanol 30% com duração de 10 min até o etanol 70%). Em seguida, foram introduzidas em cadeia crescente de banhos em etanol até o etanol absoluto. Foi realizado então banho com etanol/xilol 50%, dois banhos em xilol e, por fim, imersão em parafina com ponto de fu-

são em 60°C, confeccionando-se os blocos de tecido. Cinco cortes de 5µm foram obtidos em micrótomo para cada espécime e, a seguir, foram corados em hematoxilina e eosina sendo então analisados em microscopia de luz convencional.

### Medidas Histológicas

Após o preparo histológico dos espécimes foi tomada a medida da área ulcerada obtendo-se uma média por espécime, considerando a descontinuidade do epitélio, através do software Image J, obtida em pixels por cm.

### Análise estatística

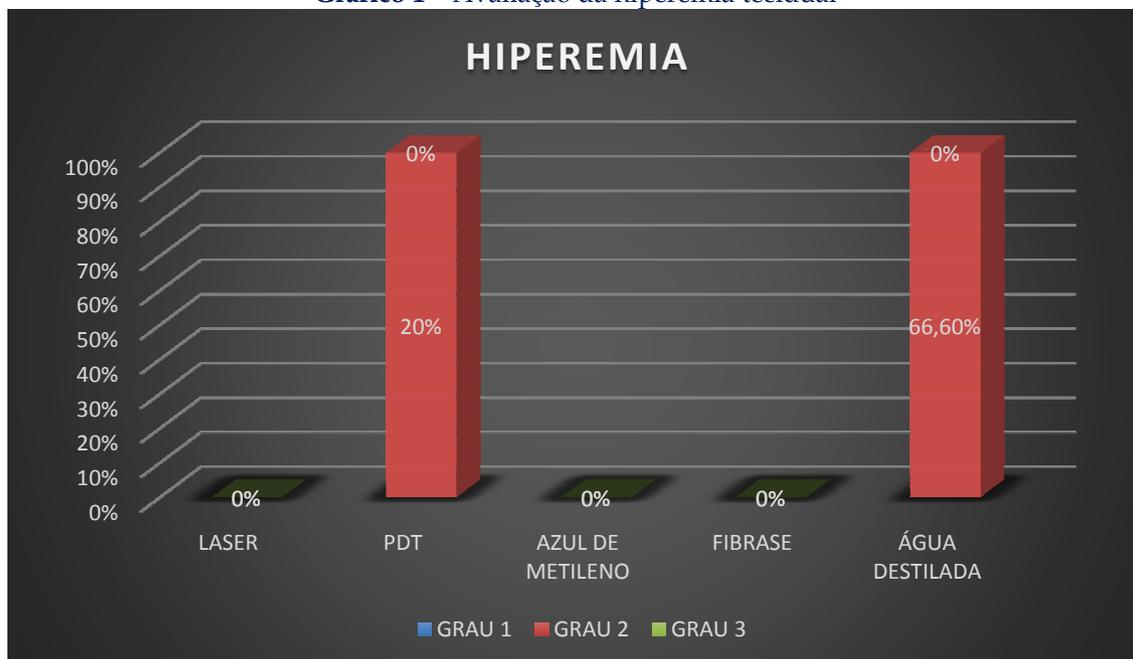
Procedeu-se a estatística descritiva utilizando média para os dados numéricos obtidos na medida das áreas, bem como para as porcentagens obtidas na quantificação da redução da área.

Foi realizado teste de Kruskal-Wallis, para comparações múltiplas, O nível de significância adotado foi de 0,05%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Parâmetros clínicos

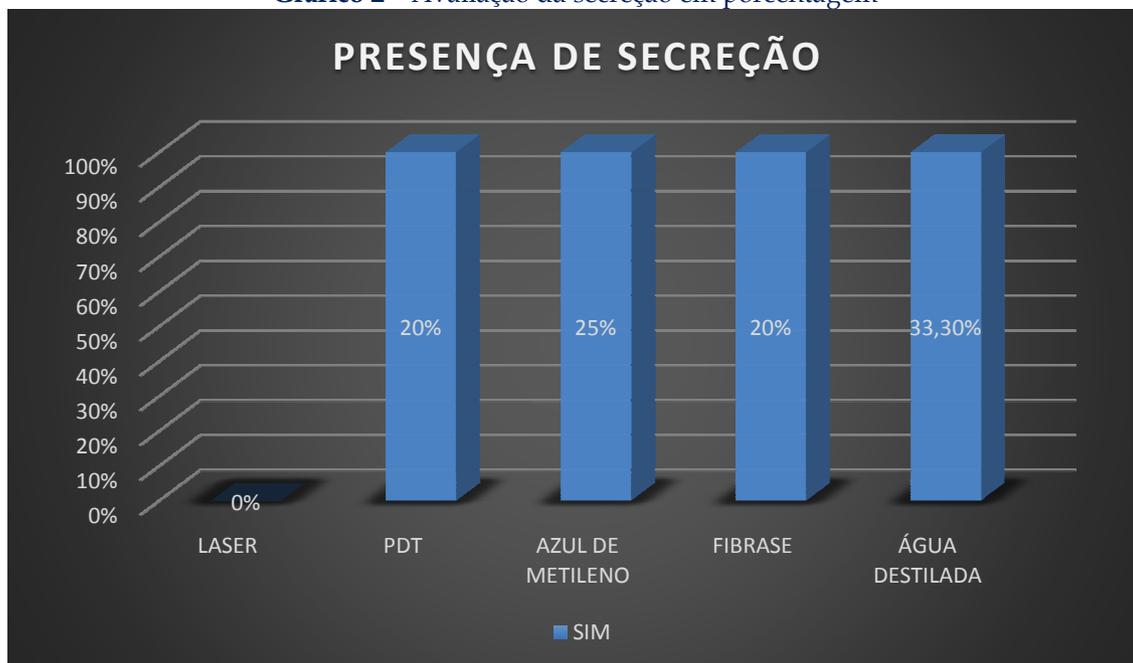
Gráfico 1 - Avaliação da hiperemia tecidual



Percentual do grau de hiperemia das lesões avaliados visualmente. Grau de Hiperemia – Escala de 1 à 3: 1) Pouca Hiperemia, 2) Hiperemia, 3) Muita Hiperemia.

Dentre os grupos que não apresentaram hiperemia, estão presente os grupos laser, azul de metileno e fibrase. Em contraste, os grupos PDT e água destilada, manifestaram hiperemia tecidual grau 2, apresentando 20% e 66,60%, respectivamente. Segundo Guyton e Hall (2006), durante a inflamação os mediadores químicos levam ao relaxamento das válvulas dos vasos, contribuindo, portanto, para o extravasamento de sangue em direção ao leito capilar, cuja inflamação se localiza. Isso ilustra a possibilidade de resquícios de inflamação no local da lesão, mesmo após a realização do tratamento. O estresse oxidativo provocado pelo PDT para inviabilizar as bactérias presentes pode ser o responsável por esse quadro, já a água destilada que não tem nenhum efeito comprovado sobre o tecido, funcionando nestas condições experimentais como placebo, permitiria que o quadro inflamatório perdurasse por mais algum tempo. Valor de p no teste de kruskal wallis = 2E-06, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Gráfico 2 - Avaliação da secreção em porcentagem



Presença ou não de secreção nas lesões por grupo

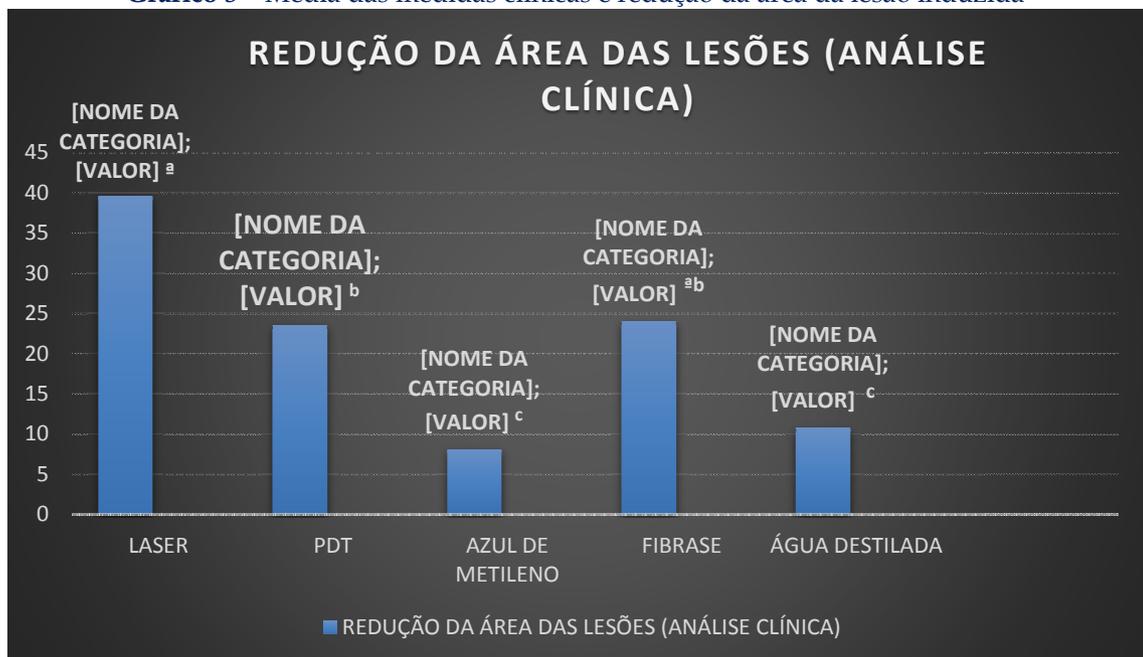
Somente o grupo laser não apresentou secreção em nenhuma das lesões tratadas após avaliação clínica em 72 horas. Os demais grupos, apresentaram algum percentual secretório em suas lesões. Valor de p no teste de kruskal-wallis = 6,45, haven-

do, portanto, diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

A partir da análise dos parâmetros visuais quanto à presença de hiperemia e secreção, observou-se que o grupo laser apresentou resultados mais efetivos, seguido pelos grupos PDT e fibrase. Estas amostras apresentaram, em superfície, uma melhora entre as demais, em relação aos aspectos superficiais, como: vermelhidão, retração da ferida e tecido de granulação (dados não demonstrados).

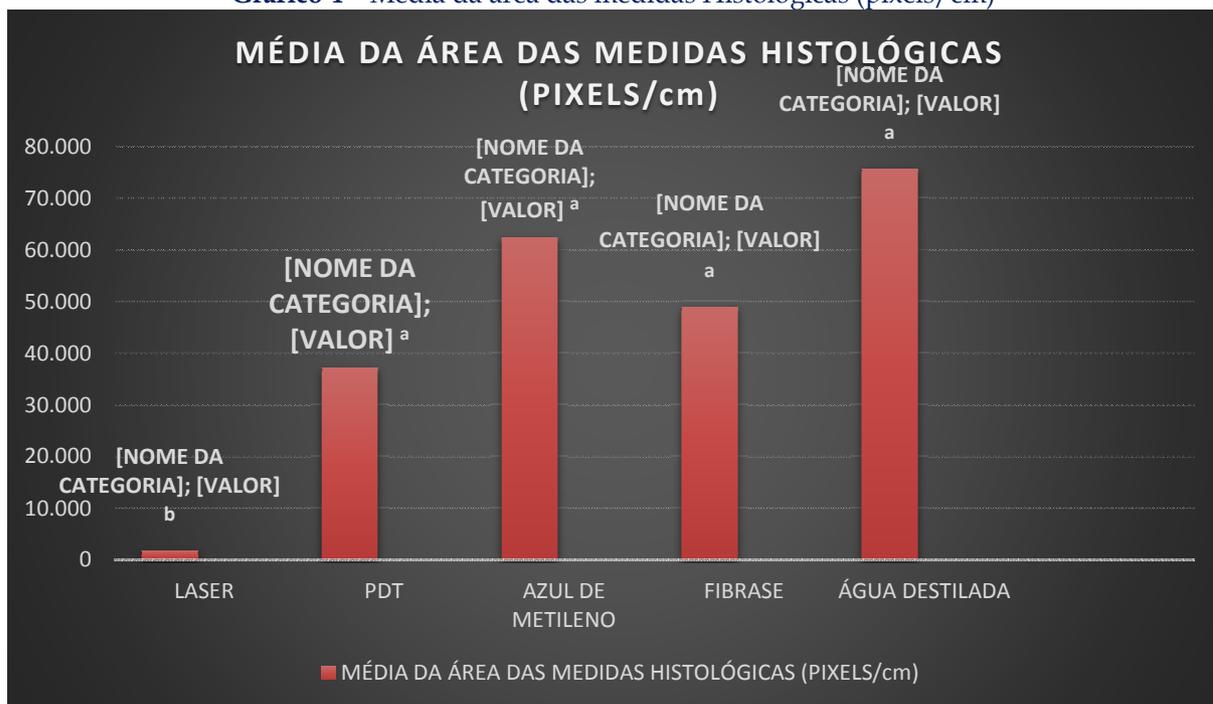
De acordo com Andrade (2014), a laserterapia tem sido administrada com o intuito de gerar melhores respostas quanto ao processo inflamatório, redução da dor e edema, levando, portanto, a preservação de tecidos e nervos presentes no local da lesão. Desta forma, levando em consideração o processo de reparo, tais fatores são essenciais para o alcance deste, tornando o laser uma terapêutica de grande valia para a obtenção de resultados mais eficazes. A PDT, por sua vez, possivelmente em função do mecanismo fotodinâmico e do estresse oxidativo neste contexto estaria inviabilizando bactérias e o processo de reparo estaria ocorrendo de forma indireta por isso não com a mesma efetividade que o laser ou que o controle positivo que associa substâncias antibacterianas como o cloranfenicol e substâncias líticas como a fibrinolizina.

Gráfico 3 - Média das medidas clínicas e redução da área da lesão induzida



Valor de p para o teste de Kruskal-Wallis = 0,0012. Sendo assim, observou-se que a = estatisticamente significativa aos grupos PDT, azul de metileno e água destilada. ab = não manifesta diferença entre os grupos laser e PDT, mas sim entre os grupos azul de metileno e água destilada. b = estatisticamente significativa aos grupos azul de metileno e água destilada. C = estatisticamente significativa em relação aos grupos laser, PDT e fibrase, mas não em relação aos grupos azul de metileno e água destilada.

Gráfico 4 - Média da área das medidas Histológicas (pixels/cm)



Valor de p para o teste de Kruskal-Wallis: 0,0024. a = apresenta diferença estatística quanto ao grupo laser, mas entre os grupos PDT, azul de metileno, fibrase e água destilada. b = estatisticamente significativa em relação aos grupos PDT, azul de metilno, fibrase e água destilada.

Quanto à redução da medida clínica da lesão, bem como a medida histológica, verificou-se, novamente, o laser como o grupo que demonstrou melhor eficácia quanto ao processo de cicatrização, correspondendo à 39,63% e 1840 pixels/cm, respectivamente, o que tornou o resultado da avaliação do aspecto visual, mais fidedigno e confrmatório.

Segundo Leite et al (2009), a laserterapia é uma terapêutica que tem sido utilizada com o objetivo de acelerar a cicatrização devido a sua ação bioestimuladora, analgésica e anti-inflamatória, ações essas diretas sobre o tecido o que não ocorre com a PDT.

Além disso, o laser também apresenta efeito de imunidade local, ou seja, o mesmo gera o aumento da proliferação e ativação dos linfócitos e da fagocitose pelos macrófagos, o que contribui para a elevação da secreção de fatores de crescimento de fibroblasto e para a intensificação da reabsorção tanto de fibrina, quanto de colágeno, além de auxiliar para a elevação da motilidade de células epiteliais e quantidade do tecido de granulação (ANDRADE; CLARCK; FERREIRA, 2014).

Em relação ao grupo PDT e fibrase, observou-se que ambos apresentaram-se em patamares próximos, quanto à redução da medida clínica e medida histológica. No entanto, ao avaliar os aspectos como um todo, levando em consideração a análise dos parâmetros visuais, clínica e histológica, o PDT apresentou melhores resultados.

Nóbrega (2005) evidencia que a PDT também realiza biomodulação do tecido por meio do aumento da cadeia respiratória mitocondrial e síntese de adenosina trifosfato, contribuindo, portanto, para o processo de cicatrização.

Já a fibrase, caracteriza-se pela associação de clorafenicol, que apresenta caráter antibiótico, fibrinolizina, responsável por agir contra proteínas desnaturalizadas, como aquelas encontradas no tecido desvitalizado, e desoxirribonuclease, sendo esta uma enzima que hidroliza especificamente as moléculas de ácidos desoxirribonucleico e desoxirribonucleoproteínas, que são as principais mediadoras do exsudato purulento. Desta forma, tais componentes da fibrase, contribuem no processo de reparo, porém quando comparada com a ação fotobiomoduladora direta do laser acaba apresentando menor efetividade possivelmente pela rapidez com com que os eventos do laser ocorrem (PFIZER, 2007).

Neste sentido, verifica-se que as lesões que foram tratadas com a luz do laser e com o tratamento convencional, sendo este a fibrase, apresentaram melhoras signifi-

cativas clínica e histologicamente, principalmente, quanto a redução da área das lesões. Em contrapartida, os grupos controle negativo e azul de metileno, mesmo este apresentando propriedades de fotoinativação viral e sendo considerado seguro (SPERANDIO, 2009), apresentaram dentre todos os parâmetros avaliados, resultados pouco promissores, principalmente quanto a redução da medida clínica e medida histológica. Considere-se ainda que estas substâncias foram utilizadas, uma como variante da PDT já que foi a molécula fotosensibilizadora de escolha e a outra como controle negativo do experimento, não se esperando de fato resultados satisfatórios.

### **Análise do Infiltrado Inflamatório**

**Tabela 3-** Característica do infiltrado inflamatório

<b>Grupos</b>	<b>Infiltrado Inflamatório</b>
<b>Laser</b>	Intenso
<b>PDT</b>	Intenso
<b>AM</b>	Moderado
<b>Controle Positivo</b>	Discreto
<b>Controle Negativo</b>	Discreto a Moderado

A partir da análise das lâminas e da tabela 4, observou-se que o grupo PDT apresentou um infiltrado intenso e misto, principalmente na área da lesão, com presença de células inflamatórias dispersas pelo tecido. Em decorrência da PDT causar estresse oxidativo, gerando efeito direto com ação antimicrobiana, acredita-se que tal fato possa ter levado ao aumento de células inflamatórias (RODRIGUES et al, 2014).

Assim como na PDT, no grupo laser também foi identificado um infiltrado intenso e misto com a presença de eosinófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos. Neste sentido, pode-se estar diante da principal característica de biomodulação das células de defesa com acréscimo do metabolismo energético (produção de ATP), conforme os estudos de Silva et al (2004).

O laser apresenta-se então como suporte para que o próprio organismo, diante destas reações, contribua para o processo de reparo e cicatrização do tecido lesado, justificando, assim, a presença dos variados glóbulos brancos no grupo laser. Essa intensa migração celular tenderá a reduzir com o passar dos dias conforme o estudo de

Carvalho et al (2010), que demonstrou uma redução de células inflamatórias no sétimo dia após o tratamento com laser em roedores que haviam sofrido incisão cutânea no dorso.

No grupo azul de metileno, observou-se um infiltrado moderado presente no epitélio da área lesionada, ao contrário do grupo controle positivo, cujo infiltrado apresentou-se discreto. A fibrase, tratamento utilizado em tal grupo, possui em sua composição o agente clorafenicol cuja ação é antibiótica. Nesta perspectiva, nota-se que a fibrase contribuiu para a diminuta presença de leucócitos, já que a mesma, a partir da sua ação bacteriostática, reduziu o crescimento de microorganismo na área lesionada (PFIZER, 2007).

No entanto, também foi observado no grupo controle positivo, a presença de hemorragia, sendo que a presença de sangue no processo de cicatrização produz os mesmos efeitos negativos do acúmulo de líquidos, produzindo dano adicional ao tecido e exacerbando a lesão.

Quanto ao grupo negativo, fora identificado um infiltrado discreto em transição para moderado. Por ter sido utilizado como tratamento somente água destilada no respectivo grupo, a resposta inflamatória apresentou-se de forma mais acentuada, buscando evitar a contaminação do mesmo e contribuir para o processo gradual de reparo e cicatrização, uma vez que nenhuma terapia fora utilizada em tal grupo.

### **3 CONCLUSÃO**

Verificando-se o efeito da PDT mediada pelo azul de metileno (AM-PDT) sobre a redução de dimensões de feridas induzidas durante o processo de cicatrização/reparo observou-se que mesmo que esta terapia tenha apresentado resultados bem sucedidos em relação aos aspectos visuais, redução da medida clínica e medida histológica da lesão, o laser como variante da terapia, mostrou-se mais satisfatório quanto a todos os parâmetros avaliados, enquanto que a fibrase, apresentou resultados equivalentes à PDT.

Em relação à redução das dimensões das feridas diante das diferentes técnicas, verificou-se que a PDT apresentou resultados adequados, tendo o laser e a fibrase como outros destaques. Isso demonstra que tanto as técnicas fotoativadas (laser e PDT), quanto o tratamento convencional (fibrase), apresentaram resultados significativos em relação à redução da lesão em 72 horas.

Nesta perspectiva, verifica-se que a terapia fotodinâmica, assim como a laserterapia e a fibrase, demonstram efeitos promissores no reparo, cicatrização e redução das lesões.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, F. do S. da S. D; CLARK, R. M. de O.; FERREIRA, M. L. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. **Rev. Col. Bra. Cir.** v. 41, n. 2, 2014, p. 129-133.
- BARCESSAT, A. R, et al. Effect of topical 5-ALA mediated photodynamic therapy on proliferation index of keratinocytes in 4-NQO-induced potentially malignant oral lesions. **J Photochem Photobiol B.** 2013, p. 33-41.
- CARVALHO, Kelsyanne de Castro. et al. Estudo da resistência cicatricial cutânea de ratos tratados com fototerapia a laser *ConScientiae Saúde*. **ConScientiae Saúde**, Teresina, v. 9, n. 2, 2010, p. 179-186.
- FIBRASE, Farmacêutica responsável Raquel Oppermann. São Paulo: Laboratórios Pfizer Ltda, 2007. Bula de medicamento.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de Fisiologia Médica. 11<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro, Elsevier Ed., 2006.
- HAMBLIN M. R.; HASAN T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? **Photochem Photobiol Sci.** v. 3, n. 5, p. 436-50, May. 2004.
- LEITE S. N.; **Fototerapia como estímulo à cicatrização de úlceras cutâneas em ratos nutridos e desnutridos.** 2009. 116 f. Dissertação (mestrado em bioengenharia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- NÓBREGA, F. J. de O. **Estudo histológico da ação do laser e da terapia fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas em ratos tratados com corticóide.** 2005. 137f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2005.

PAOLILLO, F. R. et al. Inativação microbiana com terapia fotodinâmica e pele artificial em ratos. In: XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2014, São Carlos. Anais, São Carlos, 2014, p. 806-808.

SILVA J. C. et al. Evaluation of the use of low level laser and photosensitizer drugs in healing. **Lasers Surg. Med.** New York, v. 34, n. 5, p. 451-457, 2004.

SPERANDIO, F. F. **Avaliação da reparação tecidual de excisões realizadas em dorso de ratos submetidos à terapia fotodinâmica com a utilização de corante azul de metileno.** São Paulo, SP, 2009. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo-USP, 2009.

# IDENTIFICAÇÃO DOS BIOMARCADORES MAIS UTILIZADOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DE CÉLULAS PROGENITORAS/TRONCO DURANTE O PROCESSO DE CARCINOGENÊSE EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE ROEDORES

Taynara Camille Guilherme Lima<sup>1</sup>

Ana Rita Pinheiro Barcessat<sup>2</sup>

**RESUMO:** Esta pesquisa objetivou identificar, por meio de uma revisão sistemática, os biomarcadores mais utilizados para a caracterização de células progenitoras/tronco durante o processo de carcinogênese em modelos experimentais de roedores, a partir do que foi observado que apesar dos biomarcadores serem considerados meios eficazes para fatores de diagnóstico e prognóstico do câncer bem como para identificação de células tronco, não se pode utilizá-los fora de contexto e sem considerar as demais características que definem uma célula tronco tais como diferenciação, renovação e reparação tecidual. Não houveram evidências que demonstrassem a compatibilidade de tais marcadores com modelos de ratos e camundongos, sendo que, a partir dos estudos consultados, fora identificado que o CD133 apresenta-se em modelos de ratos, enquanto que o CD44, CD24 e o ESA, estão presentes em modelos de camundongos, sendo que todos eles apareceram no final da carcinogênese, ou seja, quando o câncer já se encontrava formado.

Palavras-Chave: Biomarcadores, Células-tronco e Carcinogênese.

## 1 INTRODUÇÃO

Células tronco (CT) são células indiferenciadas que apresentam a capacidade de auto-renovação, bem como a capacidade de sofrer diferenciação em outro tipo de célula do organismo. As CT dividem-se, basicamente, em dois tipos: CT embrionárias, que compõem o interior dos blastocistos (um aglomerado de células que dará origem à tecidos e órgãos necessários ao desenvolvimento do feto), e CT adultas, que se caracterizam por serem células indiferenciadas encontradas no meio de células diferenciadas que compõem as estruturas do corpo (FREITAS, 2011).

Ao mesmo tempo em que as CT são vistas pelos pesquisadores como um meio alternativo e promissor para o possível tratamento de patologias, como as doenças cardiovasculares, elas também são apontadas em estudos como “participantes” na

---

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PROBIC/UNIFAP, vigência 2013-2014.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Enfermagem da UNIFAP.

formação de determinados cânceres, como o câncer de cólon.

Como um meio de identificar as CT, os pesquisadores realizam testes utilizando marcadores biológicos, que são biomoléculas expressas por essas células durante o metabolismo e que indicam se essas células são tronco (CAPELOZZI, 2001).

Neste contexto, inúmeros estudiosos utilizam em seus estudos modelos experimentais de roedores, com o objetivo de identificar CT por meio dos marcadores biológicos, sendo estes selecionados a partir de diferentes critérios. Portanto, este estudo tem como finalidade identificar, por meio de uma revisão sistemática, os biomarcadores mais utilizados para a caracterização de células progenitoras/tronco durante o processo de carcinogênese em modelos experimentais de roedores.

## **2 MATERIAL E MÉTODO**

As informações obtidas acerca do presente estudo foram reunidas, organizadas, criticamente avaliadas e quantitativamente mensuradas. Portanto, tratou-se de um estudo realizado por meio de uma revisão sistemática, sem haver a apresentação de metanálise, já que não foi possível a execução desta no estudo. Esta revisão abrangeu trabalhos publicados nas bases de dados eletrônicas, como Medline, Pubmed, Lilacs, Scielo, entre outros, sendo a mesma dividida em sete passos, agrupadas em três estágios de acordo com CRD Report, uma publicação do NHS Centre for Reviews and dissemination, listados a seguir:

### **Estágio I - Planejamento**

Passo 1 - identificação da necessidade da revisão

A pergunta formulada que baseou a análise da necessidade da presente revisão foi:

Quais são os biomarcadores mais utilizados para a caracterização de células progenitoras/tronco durante o processo de carcinogênese em modelos experimentais de roedores?

Passo 2 - preparação e desenvolvimento do presente projeto de revisão sistemática

## Estágio II - Execução

Passo 3 - identificação da literatura

Passo 4 - seleção dos estudos

Para identificar os estudos relevantes, foi realizada pesquisa nas bases de dados eletrônicas (como Medline, Embase, Lilacs, Cochrane Controlled Trials Database, etc.), verificadas as referências bibliográficas dos estudos relevantes, solicitados estudos de especialistas e foram pesquisadas manualmente revistas e anais de congressos. Cada uma das fontes utilizadas foram identificadas em relação ao método que se utilizou para encontrá-las.

Passo 5 - avaliação crítica da qualidade dos estudos

Para determinar a validade dos estudos selecionados e qual a probabilidade de suas conclusões estarem baseadas em dados viciados, foram estabelecidos alguns critérios descritos na Tabela 1 abaixo:

Tabela 1 Critérios de inclusão de estudos

Descritores	Critérios
Participantes	Animais (roedores)
Intervenção	Teste de biomarcadores na carcinogênese (de qualquer natureza) para caracterização de células tronco serão considerados.
Desfecho	Útil ou não
Tipo de estudo	Somente estudos envolvendo teste de marcadores biológicos

Com a avaliação crítica identificaram-se os estudos válidos para inclusão na revisão, bem como aqueles que não preenchem os critérios de validade.

Passo 6 - extração dos dados e monitorização do progresso

As variáveis de cada estudo, as características da metodologia e dos participantes (marcadores encontrados) e os desfechos clínicos (utilidade ou não como marcador

de células tronco) foram registrados e resumidos. A avaliação desses parâmetros foi o que permitiu a comparação dos estudos selecionados.

### Estágio III - Apresentação e divulgação

Passo 7 - relatório e recomendações.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese dos principais marcadores de células tronco nos processo de carcinogênese

Tabela 2 - Biomarcadores de células tronco mais utilizado no processo de carcinogênese.

Marca-dores	Descrição	Tipo de câncer	Fase	Animal	Por que a escolha do (s) marcador (es)?	Autor/ano
CD133	<b>CD133:</b> Proteína que possui entre 97 e 120 kDa e apresenta 5 domínios transmembrana. O antígeno CD133 é encontrado no cérebro, próstata, tumores colorretais, placenta e rim. Uma proteína originalmente identificada como marcadora de células tronco hematopoiéticas, mas mais recentemente considerada como marcadora de CTNs normais humanas	Câncer Cóloretal	Câncer formado	Ratos	Representa cerca de 2% das células em câncer de cólon humano. Além disso, o CD133 também foi identificado, recentemente, como marcador de células tronco tumorais de cérebro e próstata.	TODARO, M. et al/2007 O'BRIEN, C. A. et al/2007 VITIANI, L. R. et al/2007
CD44, CD24 e ESA	<b>CD44:</b> é uma glicoproteína transmembrana envolvido na adesão entre as células e vários componentes da matriz extracelular. <b>CD24:</b> O antígeno CD24 é uma sialoproteína (Glicoproteína que tem uma estrutura com ácido siálico e é parte de membrana celulares) de membrana com PM 35kDa a 45kDa. <b>ESA:</b> O ESA (do inglês "epithelial specific antigen") tem sido considerado um marcador de células tronco tumorais de diversas neoplasias, incluindo os carcinomas de mama, próstata e pâncreas	Câncer de Pâncreas	Câncer formado	Camundongos	Identificação do CD44 e o ESA, nas células do câncer de mama.	SIMONE, D. M. / 2007

Dentre os biomarcadores mais utilizados em células tronco no processo de carcinogênese em modelos experimentais de roedores, observa-se a presença do marcador CD133, essa proteína transmembrana, encontrada principalmente no cérebro, próstata, placenta e rim, de acordo com Silveira (2012), é considerada altamente tumorigênica, favorecendo a proliferação, a auto renovação e a diferenciação das células tronco neoplásicas.

A partir de tais evidências, acredita-se que a presença do marcador CD133 nas células tronco tumorais do câncer colorretal se dá em função da agressividade de tais células, correspondendo, assim, às características já supracitadas do marcador, sendo, portanto, um dos motivos que levam a sua alta utilização neste tipo de câncer.

O marcador CD44 é outra proteína também utilizada na marcação das células tronco tumorais em roedores. Este, como descrito na tabela acima (ver tabela 2), está presente no câncer de pâncreas. Tomando por base a teoria da monoclonalidade do câncer, que propõe que uma pequena quantidade de células no câncer, sendo estas células tronco malignas ou cancerígenas, são a base para a maioria dos tumores (JUNIOR, 2012), Simeone (2007) demonstra por meio de seu trabalho, que as células tronco encontradas no câncer de pâncreas, possivelmente, são as responsáveis pela agressividade do tumor, progressão e metástase do câncer, equivalendo, portanto, as características correspondentes ao marcador CD44, tornando evidente os possíveis motivos da sua utilização na marcação das células tronco cancerígenas do pâncreas. Além deste, a proteína CD44 também está presente em outros tipos de cânceres, como o câncer de mama, próstata e colorretal, sendo que a provável justificativa para a marcação do CD44 em tais células cancerígenas, se detém à mesma utilizada no câncer de pâncreas.

Ainda entre os marcadores de células tronco tumorais do câncer de pâncreas, encontra-se o CD24. Diante das pesquisas realizadas, não se pôde estabelecer o motivo pelo qual tal proteína é considerada marcadora de célula tronco tumoral no câncer já supracitado. No entanto, frente à investigação do CD24, foram apontadas duas evidências que se remetem a este marcador: a primeira, está relacionada com a ativação

de efeito em cadeia levando a proliferação do tumor do câncer de fígado, desencadeado pelo CD24. Segundo uma pesquisa Chinesa publicada no periódico "Cell Stem Cell", a partir no momento que o CD24 é ativado, ela ativa outra proteína na célula denominada de STAT3. Esta última, penetraria, portanto, no núcleo da célula para desenvolver suas funções, que incluem formar tumores, espalha-los e torna-los resistentes às drogas. De acordo com Irene Ng, coordenadora do estudo, professora e diretora do Laboratório State Key, da Universidade de Hong Kong, pacientes com alta contagem de CD24 apresentam poucas chances de sobrevivência. Nesta perspectiva, observa-se que o CD24 revela como característica, a tumorigenicidade.

Outra evidencia desse marcador que vem sendo discutida em alguns estudos, envolve a relação que há entre o CD44 e CD24, havendo a marcação simultânea destas proteínas na célula tronco cancerígena. Segundo a pesquisa realizada por Al-Hajj (2006), a tumorigenicidade está nas células que expressam o CD44 positivo e o CD24 negativo (Imunofenótipo CD44+ e CD24).

No câncer de mama, foi verificado que as células neoplásicas com características de células tronco mais bem estudadas, são aquelas cuja expressão mais forte se remete ao marcador CD44 e que apresentam expressão diminuta ou ausente do CD24 (ZANETTI, 2011).

De acordo com Zanetti (2011), as células neoplásicas que apresentam CD44+CD24- são consideradas 100 vezes mais tumorigênicas em relação às células que não apresentam tal imunofenótipo, sendo que estes estão presentes em 22% a 31% dos carcinomas mamários humanos, além de serem considerados agressivos, apresentando elevada taxa de metástase, principalmente, metástase óssea. Entretanto, nenhum dos estudos consultados explicam claramente o motivo que leva os marcadores a gerarem a tumorigenicidade das células tronco cancerígenas, ao se expressarem conjuntamente, apenas relacionam sua imunoidentificação ou sua expressão com o comportamento tumoral mais agressivo.

Assim como o CD44 e o CD24, o ESA (do inglês "*epithelial specific antigen*") tam-

bém é considerado um marcador de células tronco na carcinogênese em roedores, que, segundo o direcionamento da literatura, pode ser encontrado tanto em humanos, quanto em animais. Pouco ainda se sabe a respeito de tal marcador, de forma que os estudos consultados não evidenciaram o motivo pelo qual o ESA tem sua participação na marcação das células tronco do câncer de pâncreas, bem como nos demais cânceres cujo marcador se faz presente, como câncer de mama e próstata.

Segundo Zanetti (2011), no câncer de mama o ESA é um marcador de células tronco em tumores que apresentam Receptores de Estrogênio (RE), sendo este necessário para o crescimento e progressão de muitos tumores. Além disso, o ESA também pode estar associado com a metástase linfonodal e com recorrência tumoral, sendo estas características também responsáveis pela agressividade do câncer de mama. Como já supracitado, o câncer de pâncreas também está associado a fatores agressivos, demonstrando uma possível evidência acerca do motivo pelo qual o ESA é tido como marcador de tais cânceres.

A partir do que foi exposto, observou-se que as células tronco cancerígenas apresentam uma resistência elevada aos tratamentos convencionais (quimioterapia e radioterapia), além de, geralmente, serem consideradas mais tumorigênicas e terem maior capacidade de desenvolver metástase.

Além disso, é notória a dificuldade de esclarecimentos acerca do motivo pelo qual tais proteínas são consideradas marcadoras de células tronco no processo de carcinogênese, havendo, em muitos casos, a necessidade de se trabalhar com as evidências encontradas sobre tais marcadores sempre associadas as demais características das células tronco.

## **4 CONCLUSÃO**

A partir do presente estudo, identificou-se que os biomarcadores mais utilizados para a caracterização de células progenitoras/tronco durante o processo de carcinogênese em modelos experimentais de roedores são: CD133, CD44, CD24 e ESA.

Não houveram evidências que demonstrassem a compatibilidade de tais marcadores com modelos de ratos e camundongos, sendo que, a partir dos estudos consultados, fora identificado que o CD133 apresenta-se em modelos de ratos, enquanto que o CD44, CD24 e o ESA, estão presentes em modelos de camundongos.

No que diz respeito à relação cronológica de aparecimento de biomarcadores durante o processo da carcinogênese, identificou-se que todos os marcadores encontrados neste estudo, apareceram no final da carcinogênese, ou seja, quando o câncer já se encontrava formado.

## REFERÊNCIAS

CAPELOZZI, V. L. Entendendo o Papel de Marcadores Biológicos no Câncer de Pulmão. *J Pneumol*, 27:321-328, nov-dez. 2001.

Cientistas identificam células tronco do câncer pancreático. Disponível em: <[http://emedix.uol.com.br/not/not2007/07fev01onc-can-sip\\_cancerpancreas.php](http://emedix.uol.com.br/not/not2007/07fev01onc-can-sip_cancerpancreas.php)> Acesso em: 06 out. 2013.

Células-tronco do câncer de fígado podem ser responsáveis pela resistência à medicação e pela metástase da doença. Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/noticia/saude/celulas-tronco-de-cancer-do-figado-podem-ser-responsaveis-por-resistencia-a-medicacao-e-metastase-da-doenca>> Acesso em: 10 ago. 2014.

FREITAS, D. P. de. **Células-Tronco Mesenquimais Derivadas da Polpa de Dente Humano**: Caracterização e Estudos Funcionais em Modelo Experimental de Epilepsia. 2011. 73 f. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) – Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – CPqGM, Salvador – Bahia, 2011.

GOUVEIA, G. M. **Avaliação da População de Células Tronco Tumorais Nas Neoplasias da Glândula Mamária em Cadelas**. 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Araçatuba – SP, 2012.

O'BRIEN, C. A. et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*, 445:106 – 110, January 2007.

SILVA, C. S. H. A. da. Et al. Adenocarcinoma de pâncreas em paciente jovem: relato de caso. *Arquivos médicos*, 56:36–39, 2011.

SILVEIRA, F. das C. A. da. **Marcadores Moleculares Empacientes Com Glioma Tratados Com Álcool Perílico**. 2012. 89 f. Tese (Doutorado em Neurociências) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

TODARO, M. et al. Colon Cancer Stem Cells Dictate Tumor Growth and Resist Cell Death by Production of Interleukin-4. **Cell Stem Cell**, 1: 389–402, October 2007.

VITIANI, L. R. et al. Identification And Expansion Of Human Colon-Cancer-Initiating Cells. **Nature**. 445:111-115, January 2007.

ZANETTI, J. S. et al. Câncer de Mama: de Perfis Moleculares a Células Tronco. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, 9: 277-292, jan./jul. 2011.



# IMPACTO DO DIABETES MELLITUS NA QUALIDADE DE VIDA DE USUÁRIOS DE UMA UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE DA CIDADE DE MACAPÁ, AMAPÁ

Tamara Silva de Sousa<sup>1</sup>

Ariely Nunes Ferreira de Almeida<sup>2</sup>

**RESUMO:** O diabetes mellitus (DM) é um sério e alarmante problema de saúde pública mundial pelas crescentes taxas de prevalência, mortalidade e impacto sobre a qualidade de vida (QV) dos portadores. Este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto do DM na QV de usuários da UBS Dr. Lélío Silva, Macapá/AP. Trata-se de um estudo descritivo, transversal, quantitativo. Foram coletados dados sociodemográficos e clínicos e utilizou-se a Escala B-PAID e o questionário WHOQOL-Bref para avaliação da QV. Dos 15 DM tipo 2, 8 (53,3%) mulheres e 7 (46,7%) homens; média de idade 61,1 ±10,8 anos; 60% pardos; 40% casados/união estável; 66,7% com ensino fundamental incompleto; 66,7% ocupam-se com os afazeres de casa e/ou são aposentados; 53,3% possui renda até 2 salários mínimos, tempo médio de diagnóstico da doença de 10,7 ±8,3 anos. Os fatores de risco da doença mais citados foram tabagismo, sedentarismo, sobrepeso/obesidade, antecedência familiar de DM e hipertensão arterial. As principais complicações da doença são neuropatia e o pé diabético, alterações visuais e renais, acidente vascular encefálico, cardiopatia isquêmica e hipertensão arterial. Na análise do B-PAID, 66,7% dos diabéticos apresentaram escore abaixo de 40, indicando baixo grau de sofrimento emocional; enquanto que, 33,3% obtiveram escore acima de 40 pontos, indicando alto grau de sofrimento emocional. No WHOQOL-Bref, apresentaram uma boa percepção da QV nos domínios físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente, com escores médios maiores que 60 pontos. De forma geral, os diabéticos tiveram uma percepção positiva das suas QV, porém aspectos físicos e psicológicos mostraram-se como os mais comprometidos, necessitando de maior atenção por parte da equipe de saúde.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus. Qualidade de Vida. Promoção da Saúde.

## 1 INTRODUÇÃO

**D**iabete mellitus (DM) “não é uma única doença, mas um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresenta em comum a hiperglicemia, resultada de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambas” (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016, p.7). É uma doença crônica priorizada em nível global. Seu impacto inclui elevada prevalência, importante morbidade decorrente de complicações agudas e crônicas e alta ta-

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PROBIC/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Fisioterapia da UNIFAP.

xa de hospitalizações e de mortalidade, gerando significativos danos econômicos e sociais (ISER et al., 2015).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2015), a estimativa de morte causada por doenças não transmissíveis (DANT) é de 38 milhões de pessoas por ano, representando 68% de todas as mortes no mundo. Entre as principais DANTs estão às doenças cardiovasculares e o diabetes *mellitus*.

Atualmente, há cerca de 387 milhões de pessoas vivendo no mundo com a doença e se estima que em 2035 serão 471 milhões. Os fatores que justificam esse crescimento incluem o crescimento e envelhecimento populacional, maior urbanização, progressivo aumento da obesidade e sedentarismo, bem como a maior sobrevivência de pacientes com DM. (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

No Brasil, a *Pesquisa Nacional de Saúde - PNS 2013: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas*, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2014) apontou que 6,2% da população brasileira, de 18 anos ou mais de idade, é diabética, o equivalente a 9,1 milhões de pessoas vivendo com a doença no país.

Quanto a sua classificação, a OMS e a Associação Americana de Diabetes (ADA) definem quatro tipos, a saber: DM tipo 1 (DM1), DM tipo 2 (DM2), outros tipos específicos de DM e DM gestacional. O DM1 é resultado da destruição de células beta-pancreáticas com consequente deficiência de insulina. Na maioria dos casos, essa destruição está relacionada com a autoimunidade. O DM2, presente em 90% a 95% dos casos, caracteriza-se por defeitos na ação secreção da insulina. Ambos os efeitos se manifestam quando há hiperglicemia, no entanto pode haver predomínio de um deles. O diabetes *mellitus* gestacional trata-se de qualquer intolerância a glicose, de magnitude variável, com início ou diagnóstico durante a gestação (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

De acordo com Nunes (2011) a avaliação da Qualidade de Vida (QV) tem sido

continuamente incorporada a estudos clínico-epidemiológicos envolvendo pacientes com doenças crônicas como DM2, pois milhões de pessoas em todo o mundo vivem com a doença e sofrem pelas suas complicações, apresentando uma diminuição da QV. Para Gusmai, Novato e Nogueira (2015) as condições físicas e emocionais em que o indivíduo com DM está inserido surgem como fatores importantes na determinação de seu comportamento referente à adesão ao tratamento.

Quanto ao conceito de Qualidade de Vida (QV), o grupo da OMS que estuda essa temática, o World Health Organization Quality of life (WHOQOL GROUP), definiu genericamente como “a percepção do indivíduo e sua posição na vida, no contexto da cultura e sistema de valores nos quais ele vive em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações” (WHOQOL GROUP, 1995 apud ALMEIDA, 2012 p. 34)

Com o passar dos anos, o conceito de QV tem sido ampliado significando além do crescimento econômico, o desenvolvimento social e, presentemente, valorizam-se fatores como satisfação, qualidade dos relacionamentos, relação social, percepção do bem-estar, acesso à cultura, lazer, felicidade, solidariedade e liberdade (ALMEIDA, 2012).

O discurso da relação entre saúde e QV, referente às condições de vida, embora bastante inespecífico e generalizante, é discutido desde as primeiras manifestações da medicina social nos séculos XIII e XIX, quando investigações começaram tornar válida esta temática e dar subsídios a políticas públicas, tendo como modelo a classe trabalhadora inglesa, na qual relacionou as condições de vida com as condições de saúde (BARROS, 2011).

Com o intuito de avaliar a QV, diversos instrumentos foram sendo construídos permitindo uma avaliação mais objetiva e clara do impacto global das doenças crônicas, como o DM na vida dos pacientes. Tais instrumentos ou escalas de avaliação de QV incluem os genéricos e os específicos. Os genéricos são multidimensionais e têm como objetivo avaliar o impacto causado por uma doença, em vários aspectos (fun-

cionais, físicos, emocionais, sociais, mental, dor, e outros); enquanto que, os específicos, apesar de também multidimensionais, enfatizam aspectos mais específicos como sintomas, incapacidades ou limitações relacionados à determinada enfermidade (AGUIAR et al., 2008).

O WHOQOL GROUP elaborou dois instrumentos para estudo da QV geral da população, o “WHOQOL-100” e, posteriormente, sua versão abreviada o “WHOQOL-bref”; ambos trazem consigo três aspectos fundamentais quanto ao construto de QV: subjetividade, multidimensionalidade, presença de dimensões positivas e a presença de dimensões negativas (BARROS, 2011).

O WHOQOL-BREF, versão abreviada do “WHOQOL-100”, é um instrumento genérico de avaliação constituído de 26 perguntas, duas de QV geral e as demais representam cada uma das 24 facetas que compõe o instrumento original, as quais compõem quatro domínios que são: Físico, Psicológico, Relações Sociais e Meio Ambiente. As respostas seguem uma escala de Likert de 1 a 5, quanto maior a pontuação melhor a QV (CRUZ, 2010).

O WHOQOL (nas versões original e abreviada) está disponível em mais de 40 idiomas diferentes, incluindo a versão em português. Isso reflete não somente a boa aceitabilidade desse instrumento como também o crescente interesse pelo estudo da temática QV, por diversas áreas do conhecimento, especialmente a área da saúde (ANGELIM et al., 2015).

Por sua vez, o Problems Areas in Diabetes (PAID), diferente do WHOQOL, é um instrumento específico para a avaliação da QV, traduzido para o português e validado para o Brasil, sendo a versão brasileira intitulada (B-PAID). Contém 20 questões que cobrem uma amplitude de estados emocionais frequentemente reportados pelos pacientes com DM1 e DM2. As questões enfocam aspectos da QV e problemas emocionais relacionados a viver com a doença e seu tratamento, incluindo culpa, raiva, depressão, preocupação e medo (ANDRADE, 2013; CROSS, 2004). Ademais, apresenta condições psicométricas e validade satisfatórias podendo ser considerado como

ferramenta de avaliação, na perspectiva dos pacientes, do impacto do DM e do tratamento em suas vidas (BEZERRA, 2015).

O B-PAID, portanto, serve como uma ferramenta clínica e uma medida de desfecho, sendo utilizada na prática clínica como instrumento de mensuração do sofrimento que os pacientes normalmente sentem em viver com o diabetes. A escala produz um escore total que varia de 0 a 100 no qual a pontuação máxima configura-se como maior sofrimento (SOUZA et al., 2012).

Para Bezerra (2015) os instrumentos que avaliam QV são importantes, pois permitem avaliar o impacto de uma patologia na vida dos pacientes, identificar quando estes necessitam de cuidados particulares, além de auxiliar no planejamento e avaliação de determinados tratamentos. Para tanto, devem apresentar um formato simples, de fácil aplicação e compreensão e não ser demasiadamente extenso (BEZERRA, 2015).

Mediante o exposto, o objetivo geral deste estudo foi *Avaliar o impacto do DM na QV de usuários da UBS Dr. Lélío Silva, Macapá/AP, a partir de um instrumento específico de avaliação da QV (Escala B-PAID) e outro genérico (Questionário WHOQOL-Bref).*

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

Este estudo é parte de um projeto de pesquisa maior intitulado “*Qualidade de vida de diabéticos assistidos pela estratégia saúde da família: implicações para o papel do fisioterapeuta na atenção básica*”, aprovado pelo CEP/UNIFAP, parecer nº FR-456146/011, e registrado no Departamento de pesquisa/UNIFAP sob nº 23125002338/2014-07.

Trata-se de um estudo descritivo exploratório, transversal e quantitativo, realizado com diabéticos tipo 2 usuários da UBS Dr. Lélío Silva, em Macapá, AP. As entrevistas para coleta de dados foram realizadas entre os meses de novembro de 2015 a abril de 2016, com o consentimento formal do diretor da referida UBS.

Os participantes foram selecionados durante suas rotinas de consultas periódicas na UBS e responderam as perguntas de forma voluntária, em um único momento,

após terem sido esclarecidos dos objetivos do estudo e do caráter confidencial das informações individuais prestadas por eles. Portanto, todos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Não foram incluídos neste estudo os diabéticos do tipo I e os casos de diabetes gestacional.

Para coleta dos dados foram utilizados os seguintes instrumentos: 1) Formulário para registro dos dados sociodemográficos (sexo, idade, raça/cor, estado civil, escolaridade, profissão/ocupação, renda familiar) e clínicos (tempo de diagnóstico de DM, fatores de risco, complicações secundárias, formas de tratamento e valores de glicemia em jejum); 2) Escala B-PAID (Problem Areas in Diabetes); 3) Questionário WHOQOL-bref (World Health Organization Quality of Life).

Na Escala B-PAID, o escore total varia de 0 a 100, quanto maior a pontuação maior o nível de sofrimento emocional. Utiliza uma escala Likert de 5 pontos variando de: “Não é problema=0”, “Pequeno problema=1”, “Problema moderado=2”, “Quase um problema sério=3”, “Problema sério=4”. O escore total é alcançado pela soma das respostas de 0 a 4 obtidas nas 20 questões, e multiplicando esta soma por 1, 25 (GROSS, 2004).

No questionário WHOQOL-bref, cada item é pontuado de 1 a 5 numa escala do tipo Likert. Os escores são transformados linearmente numa escala entre 0 e 100, no qual 0 representa pior qualidade de vida e 100 melhor qualidade de vida (CRUZ, 2010).

Os dados coletados foram exportados e manuseados no software Microsoft Office Excel versão 2010. A fim de evitar erros de digitação e duplicidade de dados optou-se pela revisão em dupla verificação, com a presença da aluna bolsista e orientadora.

Para análises do B-PAID e WHOQOL-bref foram seguidas as instruções dos próprios instrumentos para os cálculos dos escores. Em seguida optou-se pelo Teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney para comparar os valores escores entre os grupos homens e mulheres. O nível de significância adotado foi  $\alpha$  0,05. Os resultados são apre-

sentados como valores absolutos (n) e relativos (%), média, desvio padrão, mediana, valores mínimo e máximo, por meio de tabelas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA SEGUNDO VARIÁVEIS SOCIODEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS.

As características sociodemográficas dos 15 participantes do estudo estão descritas na **Tabela 1**. Os dados revelam que entre os entrevistados 8 (53,3%) eram do sexo feminino e 7 (46,7%) do sexo masculino, com idades entre 36 a 80 anos (61,1  $\pm$ 10,9) (mediana 62), 9 (60%) pardos, 6 (40%) são casados/união estável, 10 (66,7%) possuem ensino fundamental incompleto. Quanto à profissão/ocupação 10 (66,7%) referiram ser do lar e/ou estarem aposentados e 8 (53,3%) ter renda familiar entre 1 a 2 salários mínimos.

**Tabela 1** - Distribuição dos diabéticos, segundo variáveis sociodemográficas.

Variáveis Sociodemográficas	Diabéticos (N=15)	
	N	%
<b>Sexo</b>		
Masculino	7	46,7
Feminino	8	53,3
<b>Idade (anos)</b>	<b>Média/DP</b>	<b>Mediana</b>
Masculino (Faixa etária: 50 a 80 anos)	64,9 $\pm$ 9,7	66
Feminino (Faixa etária: 36 a 71 anos)	57,8 $\pm$ 11,4	59,5
Grupo (Faixa etária: 36 a 80 anos)	61,1 $\pm$ 10,9	62
<b>Raça/cor</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Parda	9	60
Negra	4	26,7
Branca	2	13,3
<b>Estado Civil</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Solteiro	3	20
Casado/União estável	6	40
Separado/Divorciado	2	13,3
Viúvo	4	26,7
<b>Escolaridade</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Analfabeto	3	20
Fundamental Incompleto	10	66,7
Médio Incompleto	1	6,7
Médio Completo	1	6,7
<b>Profissão/ocupação</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Autônomo	3	20
Do lar/Aposentado	10	66,7

Trabalhador Assalariado	2	13,3
Renda familiar*	N	%
Menos de 1 salário mínimo	5	33,3
1-2 salários mínimos	8	53,3
3-4 salários mínimos	1	6,7
4 ou mais salários mínimos	1	6,7

\* Para análise da renda familiar foi considerado o valor do salário mínimo nacional: R\$ 880,00 (Decreto nº 8.618, de 29.12.2015).

Fonte: Dados do estudo.

Os perfis de sexo, idade e escolaridade dos diabéticos deste estudo assemelham-se aos descritos pela Pesquisa Nacional de Saúde - PNS 2013 (IBGE, 2014), na qual apontou maior proporção de relato de diagnóstico de diabetes entre as mulheres (7,0%) do que nos homens (5,4%), além de maior percentual de diabéticos quanto maior a faixa etária e predominância da doença em indivíduos sem instrução ou com o fundamental incompleto (9,6%).

Em relação à cor, estado civil, profissão/ocupação e renda, dados parecidos foram encontrados no estudo de Almeida e Cárdenas (2015) ao investigarem 68 diabéticos tipo 2 usuários da UBS da Universidade Federal do Amapá, onde também houve predomínio de pardos, convivendo com companheiro (a), aposentados e com baixa renda.

Quanto às variáveis clínicas, os pacientes relataram tempo médio de diagnóstico de DM de  $10,7 \pm 8,3$  anos, mediana 10 anos, conforme a **Tabela 2**. Prevalência também encontrada em outros estudos com diabéticos (CORTEZ et al., 2015; JUNIOR; HELENO; LOPES, 2013).

**Tabela 2** - Tempo de diagnóstico dos diabéticos

Tempo de diagnóstico Anos	Min-Máx	Média/DP	Mediana
	1-25	10,7±8,3	10

Fonte: Dados do estudo.

Na **Tabela 3**, estão descritas os principais fatores de risco e complicações relatadas pelos diabéticos. Destacam-se como fatores de risco: tabagismo (66,7%), sedentarismo (66,7%), antecedentes familiares da doença (60%) e hipertensão (26,7%), considerados pela literatura científica como variáveis associadas ao alto e muito alto risco para o desenvolvimento de DM2 (ARAUJO et al., 2015). Por sua vez, as complicações

secundárias mais referidas foram: alterações visuais (73,3%), neuropatia diabética (66,7%) e hipertensão (40%).

**Tabela 3** – Fatores de risco e complicações dos diabéticos

Fatores de risco	N	%
Antecedentes familiares	9	60
Tabagismo	10	66,7
Sedentarismo	10	66,7
Sobrepeso/Obesidade	2	13,3
Hipertensão arterial	4	26,7
Complicações secundárias	N	%
Hipertensão arterial	6	40
Cardiopatía isquêmica	2	13,3
AVC	2	13,3
Úlceras nos pés	2	13,3
Neuropatia diabética	10	66,7
Alterações visuais	11	73,3
Alterações renais	1	6,7

Fonte: Dados do estudo.

A presença de complicações pode está associada ao tempo de DM visto que a maioria dos entrevistados apresentou tempo de doença diagnosticada há  $10,7 \pm 8,3$  anos. Esta relação foi referida por Cortez et al. (2015) quando compararam a relação entre duração da doença e a presença de complicações, onde foi possível afirmar que elas se relacionaram, visto que, quanto maior o tempo da doença, maior a eventualidade no aparecimento de complicações. Além disso, o aparecimento de complicações observadas em pessoas com mais tempo de doença pode ser afetado não só pela exposição clínica, mas também pelo tratamento nos quais são submetidos ao longo de suas vidas (CORTEZ et al., 2015).

Quanto aos tipos de tratamentos adotados pelos diabéticos, descritos na **Tabela 4**, a maioria (47,7%) fazia uso de antidiabéticos orais como Glibenclamida e Metformina, 26,7% insulina e 33,% administravam outros medicamentos. Ademais, 46,7% disseram aderir uma dieta e apenas 26,7% praticavam atividade física.

**Tabela 4-** Forma de tratamento dos diabéticos

Formas de tratamento	N	%
<b>Medicamentoso</b>	15	100
<i>Glibenclamida</i>	7	46,7
<i>Metformina</i>	7	46,7
<i>Insulina</i>	4	26,7
<i>Outros</i>	5	33,3
<b>Atividade física</b>	4	26,7
<b>Dieta balanceada</b>	7	46,7

Fonte: Dados do estudo.

A baixa adesão ao tratamento nutricional e à prática de atividades físicas não é um problema encontrado somente neste estudo. Boas et al. (2011) ao investigarem a adesão à dieta e ao exercício físico de pessoas com diabetes *mellitus*, concluíram que ambos estavam deficitários na população estudada. No estudo de Araujo (2015), realizado em diversas regiões do Brasil, foi encontrada prevalência de atividade física insuficiente em 66% dos adultos e 73,9% dos idosos.

Portanto, tomar decisões que confrontem os hábitos de vida em geral é um grande desafio para a maioria das pessoas, especialmente quando se refere a seguir uma dieta e praticar exercícios físicos. Em especial, as pessoas com DM devem tomar decisões diárias para controlar sua doença, as quais terão um maior impacto sobre seu bem-estar do que aquelas tomadas pelos profissionais da saúde (BOAS et al., 2011).

Quanto à análise da variável clínica glicemia, os níveis médio de glicemia em jejum dos entrevistados correspondeu a 149,5 ±69,4 mg/dl, mín-máx 60-250 mg/dl, mediana 124 mg/dl, conforme **Tabela 5**.

**Tabela 5-** Valores descritivos de glicemia em jejum dos diabéticos

Glicemia em jejum- mg/dl)	Min-Máx	Média/DP	Mediana
	60-250	149,5±69,4	124 mg/dl

Fonte: Dados do estudo.

Para avaliação do controle glicêmico foi considerado a recomendação da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), a qual determina glicemia pré-prandial normal <100mg/dl (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016). Assim, 40% dos diabéticos apresentaram glicemia ≤100, enquanto que, 60% obtiveram valores glicêmicos em jejum maiores que 100mg/dl, indicando um déficit de controle

glicêmico, **Tabela 6.**

**Tabela 6-** Níveis glicêmicos dos diabéticos

Controle Glicêmico (glicemia em jejum- mg/dl)*	N	%
≤100	6	40
>100	9	60
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

\* Recomendação da SBD: glicemia pré-prandial normal <100mg/dl (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

Fonte: Dados do estudo.

Tem sido documentado que o acompanhamento nutricional, independente do tipo de diabetes e tempo de diagnóstico, favorece o controle glicêmico promovendo redução de 1% a 2% de hemoglobina glicada. Sabe-se também que o acompanhamento nutricional, quando associado a outros componentes do cuidado com o diabetes, pode melhorar ainda mais as características clínicas e metabólicas dessa doença. O exercício físico tem se mostrado benéfico na prevenção e tratamento do DM, pois atua sobre o controle glicêmico e outros fatores de comorbidade, como hipertensão, dislipidemia e reduzindo o risco cardiovascular (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

Embora não seja objetivo deste estudo analisar a influência do uso da medicação no controle glicêmico, podemos observar que, mesmo com a adoção do tratamento medicamentoso sendo unânime entre os entrevistados, o controle glicêmico não atingiu os níveis desejados conforme os valores de recomendação. Neste sentido, ratifica-se a importância, em concordância com a literatura, de que o tratamento do DM deve ser baseado em cinco aspectos fundamentais: terapia farmacológica, terapia nutricional, atividade física regular, monitoramento e educação (ALMEIDA, 2012; DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016). Para Santos et al. (2015) a intervenção multiprofissional, em especial a fisioterapia, não apenas reabilitadora, mas principalmente preventiva frente às complicações do DM, exerce caráter decisivo para melhorar a vida do indivíduo com diabetes.

Assim, mesmo na presença da terapia medicamentosa, a baixa adesão às mu-

danças de vida diária como a adoção de dieta balanceada e atividade física regular pode ter sido fator determinante para o déficit no controle glicêmico da maioria dos indivíduos entrevistados.

### 3.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA.

#### 3.2.1 Análise do B-PAID

Na Escala B-PAID, o escore total varia de 0 a 100, sendo considerado como ponto de corte para análise, o escore 40, onde: <40 indica baixo grau de sofrimento emocional;  $\geq 40$  indica alto grau de sofrimento emocional.

A **Tabela 7** mostra a distribuição dos diabéticos, segundo valor de corte. A maioria (66,7%) dos indivíduos teve uma percepção positiva quanto a viver com o diabetes e para 5 mulheres (33,3%) essa condição indicou sofrimento. Todavia, ao se analisar os escores por domínios (*Emocional*: média  $21,9 \pm 18,0$ ; mediana 17,5); (*Tratamento*: média  $4,75 \pm 4,1$ /mediana 5); (*Alimentação*: média  $5,25 \pm 4,1$ /mediana 5), (*Apoio social*: média  $1,83 \pm 3,2$ /mediana 0), bem como os escores totais (média  $33,75 \pm 25,9$ /mediana 28,75) é possível perceber que, de forma geral, o grupo de diabéticos apresentou baixo nível de sofrimento emocional em viver com a doença, pois teve valores de escores (média e mediana) < 40 pontos, conforme demonstrado na **Tabela 8**. Resultados semelhantes também foram obtidos por Souza et al., (2012).

**Tabela 7-** Distribuição dos diabéticos, segundo ponto de corte (escore 40) do B-PAID.

Escore	Homens (n)	Mulheres (n)	Total	%
< 40 - baixo grau de sofrimento emocional	7	3	10	66,7
$\geq 40$ - alto grau de sofrimento emocional	-	5	5	33,3
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

Fonte: Dados do estudo

**Tabela 8** – Análise descritiva dos escores dos domínios de QV do B-PAID

Paciente	Soma das questões*	Escore Emocional	Escore Tratamento	Escore Alimentação	Escore Apoio social	Escore total**
1	59	47,5	10	8,75	7,5	73,8
2	9	8,75	0	2,5	0	11,3
3	20	15	3,75	6,25	0	25
4	7	5	1,25	2,5	0	8,8
5	69	56,25	10	15	5	86,3
6	23	20	5	3,75	0	28,8
7	5	1,25	5	0	0	6,3
8	30	17,5	12,5	7,5	0	37,5
9	28	17,5	7,5	0	10	35
10	53	52,5	5	8,75	0	66,3
11	34	30	3,75	6,25	2,5	42,5
12	13	11,25	0	5	0	16,3
13	40	32,5	7,5	7,5	2,5	50
14	1	1,25	0	0	0	1,3
15	14	12,5	0	5	0	17,5
	<b>Média (DP)</b>	21,9 (±18,0)	4,75 (±4,1)	5,25 (±4,1)	1,83 (±3,2)	33,75 (±25,9)
	<b>Mediana</b>	17,5	5	5	0	28,75
	<b>Mín-máx</b>	1,25-56,25	0-12,5	0-15	0-10	1,25-86,25

\* soma das 20 questões do B-PAID, onde cada questão recebe o valor de 0 a 4.

\*\* o escore total é obtido pela soma das 20 questões do B-PAID e multiplicado por 1,25.

Em seguida, as **Tabelas 9 e 10** mostram, respectivamente, as médias e medianas dos escores entre os sexos: mulheres ( $46,6 \pm 28,7 / 46,3$  pontos) e homens ( $19,1 \pm 11,6 / 16,3$  pontos). Adiante, a **Tabela 11** demonstra a comparação entre as diferenças desses escores entre os sexos, para a qual o *Teste U* de *Wilcoxon-Mann-Whitney* foi estatisticamente significativo ( $p = 0.049$ ), revelando que houve diferença nos graus de sofrimento emocional entre as mulheres e os homens diabéticos deste estudo, sendo as mulheres mais comprometidas nesse aspecto da qualidade de vida.

A pior avaliação da QV entre as mulheres, possivelmente se justifique pelo fato destas serem mais predispostas a alterações psicológicas do que os homens. Essa vulnerabilidade aumentada é atribuída a processos biológicos, incluindo vulnerabilidade genética, flutuações hormonais e sensibilidade a essas flutuações (ALVES, et al., 2013).

**Tabela 9** – Escore total dos domínios do B-PAID das mulheres diabéticas

Mulheres	Soma das questões	Escore total
1	59	73,8
2	69	86,3
3	28	35
4	53	66,3
5	34	42,5
6	40	50
7	1	1,3
8	14	17,5
	Média (DP)	46,6 (±28,7)
	Mediana	46,3
	Mín-Máx	1,3-86,3

Fonte: Dados do estudo.

**Tabela 10** – Escores totais dos domínios do B-PAID dos homens diabéticos

HOMENS	Soma das questões	Escore total
1	9	11,3
2	20	25
3	7	8,8
4	23	28,8
5	5	6,3
6	30	37,5
7	13	16,3
	Média (DP)	19,1 (±11,6)
	Mediana	16,3
	Mín-máx	6,3-37,5

Fonte: Dados do estudo.

**Tabela 11-** Diferença nos graus de sofrimento emocional entre homens e mulheres, por meio do *Teste U* de *Wilcoxon-Mann-Whitney*

Sexo	Média dos escores (DP)	Mediana	p-valor ( $\leq 0,05$ )
Mulheres	46,6 (±28,7)	46,3	0,0491
Homens	19,1 (±11,6)	16,3	
Diferença	27,5	30,0	

Fonte: Dados do estudo.

### 3.2.2 Análise do WHOQOL-Bref

O **Quadro 1** demonstra os 4 domínios e as 26 facetas que constituem o questionário WHOQOL-Bref. Para sua análise, os escores podem variar de 0 a 100, onde maior o escore é melhor a percepção da QV. Logo, a **Tabela 12** traz a análise descritiva dos escores dos diabéticos, por meio do WHOQOL-Bref.

**Quadro 1 - Domínios e facetas do WHOQOL-BREF**

Domínio	Facetas
<b>FÍSICO</b>	3. Dor e desconforto 4. Energia e fadiga 10. Sono e repouso 15. Mobilidade 16. Atividades da vida cotidiana 17. Dependência de medicação ou de tratamentos 18. Capacidade de trabalho
<b>PSICOLÓGICO</b>	5. Sentimentos positivos 6. Pensar, aprender, memória e concentração 7. Auto-estima 11. Imagem corporal e aparência 19. Sentimentos negativos 26. Espiritualidade/religião/crenças pessoais
<b>RELAÇÕES SOCIAIS</b>	20. Relações pessoais 21. Suporte (Apoio) social 22. Atividade sexual
<b>MEIO AMBIENTE</b>	8. Segurança física e proteção 9. Ambiente no lar 12. Recursos financeiros 13. Cuidados de saúde e sociais: disponibilidade e qualidade 14. Oportunidades de adquirir novas informações e habilidades 23. Participação em, e oportunidades de recreação/lazer 24. Ambiente físico: (poluição/ruído/transito/clima) 25. Transporte

**Tabela 12- Análise descritiva dos domínios de QV do WHOQOL-BREF dos diabéticos**

Pacientes	Físico	Psicológico	Relações sociais	Meio ambiente	Total
1	53,6	66,7	83,3	81,3	71,2
2	67,9	75,0	66,7	59,4	67,2
3	71,4	62,5	75,0	59,4	67,1
4	85,7	87,5	100,0	100,0	93,3
5	39,3	62,5	66,7	40,6	52,3
6	71,4	75,0	83,3	50,0	69,9
7	78,6	70,8	75,0	62,5	71,7
8	75,0	75,0	75,0	90,6	78,9
9	46,4	54,2	66,7	43,8	52,8
10	60,7	54,2	100,0	75,0	72,5
11	57,1	33,3	75,0	84,4	62,5
12	67,9	79,2	75,0	75,0	74,3
13	64,3	75,0	75,0	68,8	70,8
14	96,4	87,5	100,0	93,8	94,4
15	100,0	83,3	91,7	90,6	91,4
<b>Média</b>	69,05	69,45	80,56	71,68	72,69
<b>DP</b>	±16,89	±14,49	±12,06	±18,69	±12,76
<b>Mediana</b>	67,90	75	75	75	71,20
<b>Mín-máx</b>	39,3-100	33,30-87,5	66,7-100	40,6-100	52,3-94,4

Fonte: Dados do estudo.

De acordo com a Tabela 12, todos os domínios do WHOQOL-Bref tiveram uma boa percepção por parte dos diabéticos, uma vez que, apresentaram valores de escores (média e mediana) acima de 60 pontos. Numa escala de valores, do maior para o menor escore, destacam-se os domínios *Relações Sociais* (80,56 ±12,06/ 75 pontos) como o melhor aspecto avaliado pelos indivíduos e o *Físico* (69,05±14,49/ 67,90 pontos) como o pior ou mais comprometido na avaliação de QV deles.

Na análise entre grupos homens e mulheres, as mulheres apresentaram menores escores (média e mediana) nos domínios *Físico* (64,7±22,1/ 58,9 pontos) e *Psicológico* (64,6±17,7/ 64,6 pontos); enquanto que, os homens obtiveram menores escores nos domínios *Psicológico* (65,3±26,8/ 75 pontos) e *Meio ambiente* (70,9 ±18,4/ 62,5), conforme Tabelas 13 e 14, respectivamente.

**Tabela 13-** Análise descritiva dos domínios de QV do WHOQOL-BREF das mulheres diabéticas

Mulheres	Físico	Psicológico	Relações sociais	Meio ambiente	Total
1	53,6	66,7	83,3	81,3	71,2
2	39,3	62,5	66,7	40,6	52,3
3	46,4	54,2	66,7	43,8	52,8
4	60,7	54,2	100,0	75,0	72,5
5	57,1	33,3	75,0	84,4	62,5
6	64,3	75,0	75,0	68,8	70,8
7	96,4	87,5	100,0	93,8	94,4
8	100,0	83,3	91,7	90,6	91,4
<b>Média</b>	64,7	64,6	82,3	72,3	70,9
<b>DP</b>	±22,1	±17,7	±13,7	±20,2	±15,7
<b>Mediana</b>	58,9	64,6	79,1	78,1	71,0
<b>Mín-máx</b>	39,3-100	33,3-87,5	66,7-100	40,6-93,8	52,3-94,4

Fonte: Dados do estudo.

**Tabela 14-** Análise descritiva dos domínios de QV do WHOQOL-BREF dos homens diabéticos

Homens	Físico	Psicológico	Relações sociais	Meio ambiente	Total
1	67,9	75,0	66,7	59,4	67,2
2	71,4	62,5	75,0	59,4	67,1
3	85,7	87,5	100,0	100,0	93,3
4	71,4	75,0	83,3	50,0	69,9
5	78,6	70,8	75,0	62,5	71,7
6	75,0	75,0	75,0	90,6	78,9
7	67,9	79,2	75,0	75,0	74,3
<b>Média</b>	74,2	65,3	78,6	70,9	74,6
<b>DP</b>	±6,2	±26,8	±10,6	±18,4	±9,2
<b>Mediana</b>	71,4	75	75	62,5	71,7
<b>Mín-máx</b>	67,9-85,7	7-87,5	66,7-100	50-100	67,1-93,3

Fonte: Dados do estudo.

Ao se comparar os valores dos escores (média e mediana) dos domínios de QV do WHOQOL-BREF, entre homens e mulheres, por meio do *Teste U* de *Wilcoxon-Mann-Whitney*, não houve diferenças estatísticas entre eles, conforme ilustrado na **Tabela 15**.

**Tabela 15-** Comparação entre os valores dos escores dos domínios de QV do WHOQOL-BREF, entre homens e mulheres, por meio do *Teste U* de *Wilcoxon-Mann-Whitney*.

Domínios	Média (DP)		Mediana		p-valor ( $\leq 0,05$ )
	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres	
Físico	74,2±6,2	64,7±22,1	71,4	58,9	0,10
Psicológico	65,3±26,8	64,6±17,7	75	64,6	0,22
Relações sociais	78,6±10,6	82,3±13,7	75	79,1	0,68
Meio ambiente	70,9±18,4	72,3±20,2	62,5	78,1	0,81
Total	74,6±9,2	70,9±15,7	71,7	71,0	0,56

Fonte: Dados do estudo.

## 4 CONCLUSÃO

Neste estudo se verificou que a maioria dos diabéticos investigados era mulheres, na faixa etária de 36 a 71 anos, pardas, casadas ou em união estável, aposentadas ou do lar, de baixa escolaridade e renda, com longo período de doença, baixa adesão à atividade física regular e dieta balanceada, com déficit no controle glicêmico. Os fatores de risco mais presentes entre os diabéticos foram tabagismo, sedentarismo e presença de casos de DM na família. Por sua vez, alterações visuais, neuropatia diabética e hipertensão arterial foram as comorbidades mais citadas por eles.

A avaliação da QV tanto pelo B-PAID quanto pelo WHOQOL-bref evidenciou baixo comprometimento da QV relacionada à saúde nesse grupo de diabéticos. Em ambos os instrumentos de avaliação, a dimensão Social da QV foi a melhor percebida pelos indivíduos, indicando que os mesmos possuem boas relações pessoais e que se sentem apoiados socialmente. Portanto, o bem estar social pode contribuir significativamente para melhoria da QV de diabéticos.

Na avaliação da QV utilizando o instrumento B-PAID constatou-se que houve diferença nos graus de sofrimento emocional entre as mulheres e homens diabéticos, sendo as mulheres mais comprometidas nesse aspecto da QV. Porém, não foram en-

contrados diferenças no grau de comprometimento da QV entre homens e mulheres a partir do WHOQOL-bref.

Os resultados deste estudo nos levam a reflexão da importância do atendimento multiprofissional na Atenção Primária à Saúde na assistência aos DM. É sabido amplamente pela literatura científica que o êxito do tratamento do paciente diabético vai além da terapia medicamentosa exclusivamente. Portanto, a presença de profissionais da saúde como médicos, psicólogos, educadores físicos, enfermeiros, assistentes sociais, nutricionistas e fisioterapeutas pode, através de suas práticas clínicas específicas, contribuir consideravelmente para o controle das variáveis clínicas e psicossociais dos pacientes, além de melhorar a orientação dos mesmos quanto aos cuidados de suas atividades de vida diária, com ênfase no tratamento não medicamentoso do DM.

Em relação ao fisioterapeuta, apesar do mesmo ser capacitado para atuar na promoção e prevenção de complicações no que refere aos cuidados ao paciente diabético, ainda é incipiente a inserção desse profissional na rotina da Atenção Primária à Saúde; talvez ainda, pelo predomínio da visão hospitalocêntrica de sua atuação. Portanto, é necessário um novo olhar frente à inserção e valorização da fisioterapia na atenção básica.

Dessa forma, mais pesquisas sobre essa área de atuação da fisioterapia devem ser incentivadas, a fim de ampliar as investigações sobre a influência da intervenção fisioterapêutica em pacientes diabéticos assistidos em UBS, a fim de reforçar e comprovar os benefícios que este profissional pode acrescentar no cuidado integral a esse público.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, *et al.* Instrumentos de Avaliação de Qualidade de Vida Relacionada à Saúde no Diabetes Mellito. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* v. 52, n. 6, 2008.

ALMEIDA, A N F DE; **Qualidade de vida de pacientes com diabetes mellitus: estudo comparativo de dois programas assistenciais da unidade básica de saúde da universidade federal do Amapá, no município de Macapá, Amapá, 2012, 33-34 p.;**

- 131 p. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia e Saúde Pública)- Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós- Graduação em Ciências da Saúde. Macapá, 2012.
- ALMEIDA, A. N. F DE; CÁRDENAS, A. M. C. Caracterização epidemiológica de pacientes com diabetes mellitus tipo 2 de uma Unidade Básica de Saúde de Macapá, Amapá. **Revista de Biologia e Ciências da terra.** v.15,n.1, p. 31-41, 2015.
- ALVES, S. O. T, et al. Qualidade de vida relacionada a pessoas com Diabetes Mellitus. **Rev. Mineira de Enfermagem**, v. 17, p. 136-141, 2013.
- ANDRADE N do J C. **Influência dos fatores socioeconômicos e afetivo-emocionais no controle glicêmico de crianças com Diabetes Mellitus tipo 1.** 41 p. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos de órgãos e Sistemas)-Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Salvador, 2013.
- ANGELIM M de C R, et al. Avaliação da qualidade de vida por meio do WHOQOL: análise bibliométrica da produção de enfermagem. **Rev. Baiana em Enfermagem.** 29: 400-410. out./dez. 2010.
- ARAUJO, O de L. Risco para o desenvolvimento do Diabetes Mellitus em usuários da atenção primária a saúde: um estudo transversal. **Rev. Gaúcha de Enfermagem.** 36: 77-88. dez. 2015.
- BARROS, D. G. **Potencialidades do “WHOQOL-BREF” para a identificação das esferas de promoção da saúde:** Opinião de especialistas, 24-31 p. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Concentração Cuidado em Saúde)- Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011.
- BEZERRA, S. F. **Suporte social e qualidade de vida de pacientes com diabetes mellitus tipo 1.** 46-44 p. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva)- Universidade Federal do Ceará, Universidade Estadual do Ceará, Universidade de Fortaleza, Faculdade de Medicina, Departamento de Saúde Comunitária. Fortaleza, 2015.
- BOAS, V. G. C. L, et al. Adesão à dieta e ao exercício físico das pessoas com Diabetes Mellitus. **Rev. Texto e Contexto Enfermagem.** 20: 272-9. Abr./jun. 2011.
- CORTEZ N D, et al. Complicações e o tempo de diagnóstico do Diabetes Mellitus na atenção primária. **Rev. Acta Paulista de Enfermagem.** 28: 1-6. out./nov. 2014.
- CRUZ, N. L. **Medidas de qualidade de vida e utilidade em uma amostra da população de Porto Alegre,** 47 p. Tese (Doutorado em Epidemiologia)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina. Porto Alegre, 2010.
- GROSS, C. C. **Versão Brasileira da Escala PAID (Problem Areas in Diabetes): avaliação do impacto do Diabetes na qualidade de vida.** 25 p. Dissertação (Mestrado em Psicologia do desenvolvimento)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Insti-

tuto de Psicologia. Porto Alegre, 2004.

GUSMAI, F. L.; NOVATO, S. T.; NOGUEIRA, S. L. A influência da qualidade de vida na adesão ao tratamento do paciente diabético: revisão sistemática. **Rev. Escola de Enfermagem da USP**, 49: 1-8, abr./Jul. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Nacional de Saúde 2013: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas** – Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação [Internet]. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2014, 181 p. Disponível em:<<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv91110.pdf>>. Acesso em: 06/05/2016.

JUNIOR, F. A. J. A.; HELENO, V. G. M.; LOPES, P. A. Qualidade de vida e controle glicêmico do paciente portador de Diabetes Mellitus tipo 2. **Rev. Psicologia e Saúde**. 5: 102-108. Jul./dez. 2013.

NUNES, V. T. T.; **Estudo da adesão a um programa de tratamento não farmacológico em idosos com diabetes mellitus tipo 2**. 18 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva)- Universidade de Fortaleza. Fortaleza, 2011.

SANTOS, S. A. A et al.; Efeitos de um programa de reeducação sensorial em indivíduos diabéticos tipo 2. **Rev. Neurociências**, 23: 1-7. abr./nov. 2015.

SOUZA, E.C.S. E et al. Avaliação da qualidade de vida de portadores de diabetes utilizando a medida específica B-PAID. *REME rev. min. enferm*; 16(4): 509-514, out.-dez.2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health in 2015 from millennium development goals to sustainable development goals**. 2015, 216 p.

# NANODISPERSÕES DE FLAVONOIDES DE BACCHARIS RETICULARIA DC COM ATIVIDADE INIBIDORA DA $\alpha$ -AMILASE

Naima Pontes D'Haveloose<sup>1</sup>

Rodrigo Alves Soares Cruz<sup>2</sup>

**RESUMO:** O gênero *Baccharis* tem nos flavonoides sua classe de metabólitos de maior importância, conhecidos inibidores de  $\alpha$ -amilase. *Baccharis reticularia* DC é um arbusto conhecido popularmente como "alecrim da areia". Neste trabalho relatamos pela primeira vez o isolamento e identificação dos flavonoides de *B. reticularia* bem como o primeiro estudo da ação anti-hiperglicemiante desta espécie através do desenvolvimento e submissão a ensaios *in vivo* de nanodispersões estáveis da fração flavonoídica desta planta. O extrato etanólico bruto das folhas *B. reticularia* foi concentrado sob pressão reduzida, suspenso em água e então particionado sucessivamente com solventes de polaridades crescentes. A partição acetato de etila foi fracionada sucessivamente por cromatografia em coluna usando XAD-2 ou Sephadex LH-20 como fases estacionárias até o isolamento de sete substâncias (apigenina, diosmetina, eriodictiol, hispidulina, naringenina, nepetina e patuletina) que tiveram suas estruturas químicas identificadas por RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C. A fração flavonoídica apresentou atividade inibitória frente a enzima  $\alpha$ -amilase em ensaio *in-vitro*. Foi realizada uma série de nanodispersões por baixo aporte de energia e com seis diferentes tensoativos. A nanoformulação de EHL 10 apresentou melhores características físico-químicas e ação anti-hiperglicemiante no ensaio *in-vivo* de tolerância à glicose.

**Palavras-chave:** Baccharis, flavonoides, nanodispersões, anti-hiperglicemiante.

## 1 INTRODUÇÃO

**B**accharis reticularia DC (Asteraceae) é uma planta arbustiva conhecida popularmente como alecrim da areia e usada pela população como planta aromática para banhos (SANTOS et al., 2009). O gênero *Baccharis* é conhecido por ser fonte de diversos metabólitos secundários biologicamente ativos, como terpenoides e flavonoides (ALBUQUERQUE et al., 2004).

Os metabólitos secundários vegetais apresentam grande importância social e econômica. Estes são utilizados em escala industrial para a produção de inseticidas, corantes, aromatizantes e medicamentos. Entretanto, um dos grandes desafios de desenvolver produtos finais contendo substâncias naturais com atividades biológicas é o fato de muitas destas serem substâncias hidrofóbicas, com baixa solubilidade em meio

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PROBIC/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientador de iniciação científica. Professor do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

biológico (MARASCHIN & VERPOORTE, 1999).

A nanotecnologia, que é a ciência que estuda o desenvolvimento de estruturas na escala nanométrica, se constitui hoje como uma ferramenta inovadora nas diversas áreas do conhecimento humano, inclusive na área farmacêutica. Com a utilização da nanotecnologia tem se tornado possível a produção de formas farmacêuticas com excelentes propriedades físico-químicas e farmacocinéticas a partir de substâncias ativas hidrofóbicas (SILVA et al, 2015).

A  $\alpha$ -amilase é uma enzima chave na regulação do metabolismo de carboidratos, hidrolisando o amido em maltose que será posteriormente transformada em glicose. Desta forma, substâncias capazes de inibir a  $\alpha$ -amilase representam um dos principais focos da indústria farmacêutica. Um exemplo é a acarbose, fármaco inibidor da  $\alpha$ -amilase que é amplamente utilizado para suprimir a hiperglicemia pós-prandial (HANEFELD, 1998).

Os flavonoides são um grupo de substâncias naturais com inúmeras atividades biológicas, dentre elas a inibição de  $\alpha$ -amilase. Entretanto, sabe-se que os flavonoides glicosilados, mais hidrofílicos, não são tão bons inibidores da  $\alpha$ -amilase do que os mesmos na sua forma aglicona, mais hidrofóbica. Este fato dificulta tanto os ensaios *in vitro* para detecção da atividade antiamilásica quanto a preparação de formulações estáveis de flavonoides hidrofóbicos. Desta maneira, a nanotecnologia tem um grande potencial para alavancar a descoberta de novos flavonoides inibidores da  $\alpha$ -amilase sem o problema da hidrofobicidade (TADERA, 2006). Neste trabalho serão unidas duas áreas importantíssimas das ciências farmacêuticas: a fitoquímica (estudo das substâncias biologicamente ativas de plantas) e a nanotecnologia fitofarmacêutica (o desenvolvimento de nanoformulações com substâncias biologicamente ativas de origem vegetal).

## 2 METODOLOGIA

- **Material vegetal**

Folhas e caules de *B. reticularia* foram coletadas no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil (S 22° 14.105' WO 41° 35.822') de acordo com o número de licença 32/2008 do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético Brasileiro. A amostra foi identificada pelo Dr. Marcelo G. Santos e depositada no Herbário da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, sob o registro RFFP 2037.

- **Extração e isolamento**

O material botânico (1240 g) foi seco em temperatura ambiente, triturado, extraído em etanol e filtrado. O extrato foi concentrado sob pressão reduzida obtendo um extrato bruto etanólico (210 g).

O extrato bruto foi dissolvido em água e particionado em diferentes solventes obtendo frações de polaridades crescentes: hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. A fração acetato de etila foi submetida à cromatografia em coluna (CC) usando XAD-2 (fase estacionária) com água-etanol (10:0 a 0:10) como eluente. Foram coletadas dez frações de 5 L. As frações contendo flavonoides foram unidas após análise em CCD (cromatografia em camada delgada).

A fração flavonoídica liofilizada foi submetida à CC utilizando como fase estacionária Sephadex LH-20 e fase móvel constituída por metanol, etanol e água (5:3,5:1,5). As frações obtidas foram analisadas por CCD, utilizando placas de alumínio com fase estacionária de sílica-gel e como fase móvel hexano e acetato de etila (1:1). Foi utilizada solução etanólica de difenilboriloxietilaminae ou solução aquosa de FeCl<sub>3</sub> como revelador de flavonóides em CCD.

Após análise em CCD foram reunidas 7 frações de acordo com o perfil cromatográfico, obtendo-se assim 7 frações nomeadas de I, II, III, IV, V, VI e VII. A fração VII apresentou um perfil cromatográfico compatível com uma substância isolada, chamada de substância 1.

As frações I - IV foram reunidas e a nova fração foi submetida à CCD preparati-

va utilizando como fase estacionária sílica-gel e como fase móvel hexano e acetato de etila (1:1) fornecendo as substâncias isoladas 2, 3 e 4.

As frações V-VI foram reunidas e a fração foi submetida à cromatografia em coluna utilizando sílica como fase estacionária e fase móvel com gradiente de polaridade diclorometano (95-75%), acetona (5-8%) e 1,5 mL de ácido acético fornecendo a substância 5. Entretanto, nas frações restantes, duas substâncias permaneceram impuras e foram separadas por CCD preparativa, utilizando como fase estacionária sílica-gel e como fase móvel hexano e acetato de etila (1:1) fornecendo as substâncias isoladas 6 e 7.

Depois foram enviadas para análise por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  1D e 2D.

- **Desenvolvimento das nanodispersões**

A nanodispersão foi obtida por baixo aporte de energia, utilizando 97,9% de água, 0,1% de fração flavonoídica e 2% de tensoativo. Foram preparadas uma série de nanodispersões com 6 diferentes tensoativos, variando o EHL, foram eles: polisorbato 80 (EHL 15), polisorbato 20 (EHL 16,7), dioleato de polietilenoglicol 400 (EHL 8,5), dioleato de polietilenoglicol 600 (EHL 10), monooleato de polietilenoglicol 400 (EHL 11), monooleato de polietilenoglicol 600 (EHL 13). A fração flavonoídica e o tensoativo foram agitados a 800 rpm usando agitador magnético por 30 minutos. A água foi adicionada gota-a-gota, e a mistura foi agitada a 800 rpm por 1 hora. A nanodispersão foi armazenada a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C).

- **Análise físico-química**

A estabilidade das nanodispersões foi avaliada nos dias 0, 1 e 7 dias após a preparação. As características físico-químicas avaliadas foram tamanho de partícula, índice de polidispersidade e potencial Zeta por espectroscopia de correlação de fótons (Zetasizer ZS, Malvern, UK). A nanodispersão foi diluída com água para injeção (1:25) (Fernandes et al., 2013). As medições foram feitas em triplicata. O tamanho de partícula médio foi expresso como o diâmetro médio.

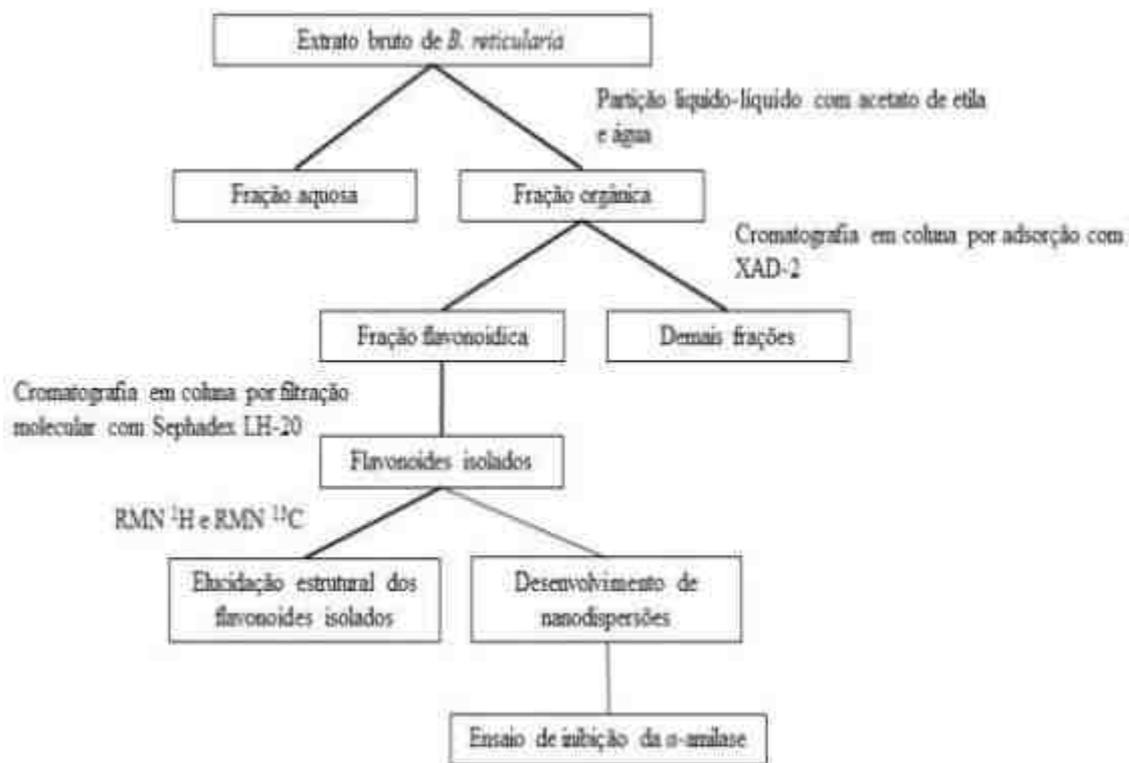
- **Ensaio inibitório in-vitro da  $\alpha$ -amilase**

A atividade inibitória da  $\alpha$ -amilase foi mensurada in-vitro pelo método de Bernfeld. A  $\alpha$ -amilase pancreática suína (Tipo VI-B, Sigma) foi dissolvida em água para se obter uma solução 1 U/mL. A fração flavonoídica foi diluída a fim de se obter concentrações de 25 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm e 1000 ppm no meio reacional. Um total de 200  $\mu$ L de amostra foi adicionado em 1000  $\mu$ L da solução de enzima em um frasco âmbar e permaneceu incubando por 5 minutos. Posteriormente adicionou-se 1000  $\mu$ L de solução de amido 1% ao meio reacional e após exatos 3 minutos foi adicionado o ácido 3,5-dinitrosalicílico, Sigma. A amostra então foi aquecida em ebulição por 15 minutos e resfriada em banho de gelo até que atingisse a temperatura ambiente. A mistura da reação foi diluída adicionando água destilada. A atividade da amilase foi determinada pela relação entre a absorvância do ensaio na presença e ausência da amostra a 540 nm.

- **Teste de tolerância à glicose**

O teste de tolerância à glicose foi desenvolvido em ratos machos normoglicêmicos pesando 300-350 g de acordo com o método de Zhang e Tan et al., 2000. Os animais foram submetidos a jejum por 12 horas antes do teste. Três grupos de animais (n=5) foram usados: o grupo controle (glicose), o grupo um (a nanodispersão foi administrada 15 minutos antes da glicose: preventivo) e o grupo dois (a nanodispersão foi administrada 15 minutos depois da glicose: remediação). Foram administrados 2 g/kg de peso corporal da glicose via oral nos animais os quais receberam 1 mg/kg dos flavonoides antes (grupo um) e depois (grupo dois) de 15 minutos de administração de glicose. A concentração de glicose no sangue foi determinada usando o medidor de glicose clínica Accu-Check Advantage no tempo 0, 15, 30, 45, 75 e 90 minutos.

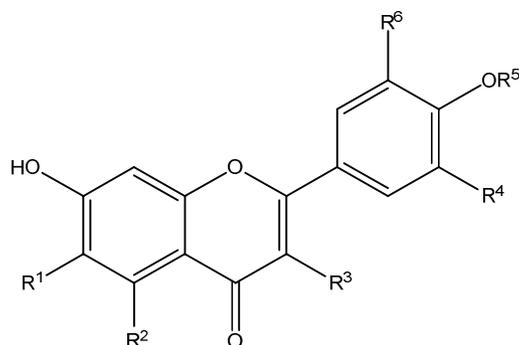
Figura 1: Fluxograma geral de atividades



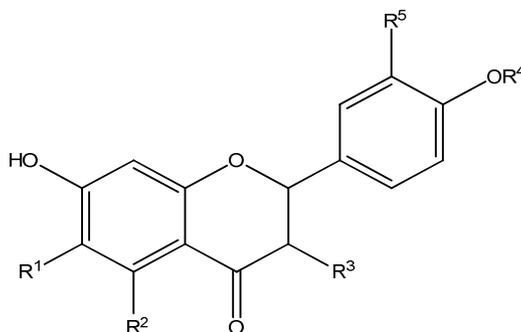
### 3 RESULTADOS

- **Identificação dos flavonoides isolados**

O fracionamento da fração flavonoídica por CC possibilitou o isolamento de sete substâncias identificadas por análise dos dados espectroscópicos e comparação com dados da literatura: apigenina (1) (BURNS et al., 2007), diosmetina (2) (HARBORNE et al., 1989), eriodictiol (3) (ENCARNACIÓN et al., 1999), hispidulina (4) (OSEI-SAFO, et al., 2009), naringenina (5) (IBRAHIM et al., 2003), nepetina (6) (SANTOS et al., 2009) e patuletina (7) (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 2004).



- (1) R<sup>2</sup> = OH; R<sup>5</sup> = H. (2) R<sup>2</sup> = OH; R<sup>5</sup> = CH<sub>3</sub>; R<sup>6</sup> = OH. (4) R<sup>1</sup> = OCH<sub>3</sub>; R<sup>2</sup> = OH; R<sup>5</sup> = H.  
 (6) R<sup>1</sup> = OCH<sub>3</sub>; R<sup>2</sup> = OH; R<sup>4</sup> = OH; R<sup>5</sup> = H. (7) R<sup>1</sup> = OCH<sub>3</sub>; R<sup>2</sup> = OH; R<sup>3</sup> = OH; R<sup>4</sup> = OH;  
 R<sup>5</sup> = H.



- (3) R<sup>2</sup> = OH; R<sup>4</sup> = H; R<sup>5</sup> = OH. (5) R<sup>2</sup> = OH; R<sup>4</sup> = H.

### • Análise físico-química das nanodispersões

Dentre a série de nanodispersões preparadas com diferentes tensoativos, a formulação de EHL 10 apresentou melhores características físico-químicas.

**Tabela 1:** Resultados de tamanho de partícula, índice de polidispersidade e potencial Zeta.

EHL	Tamanho	Polidispersão	Zeta	Tamanho	Polidispersão	Zeta
16,7	356,7 ± 26,08	0,497 ± 0,173	-22,9 ± 2,17	417,2 ± 22,37	0,504 ± 0,122	-22,4 ± 9,74
15	13,27 ± 2,138	0,289 ± 0,086	-19,3 ± 1,25	36,24 ± 8,470	0,384 ± 0,041	-27,1 ± 1,25
13	22,21 ± 0,2136	0,422 ± 0,049	-28,5 ± 2,75	38,80 ± 0,7366	0,448 ± 0,060	-20,8 ± 1,63
11	152,4 ± 1,002	0,227 ± 0,005	-33,0 ± 0,529	201,0 ± 5,456	0,354 ± 0,049	-29,3 ± 0,666
10	194,7 ± 1,986	0,245 ± 0,015	-21,7 ± 0,451	196,3 ± 0,7810	0,248 ± 0,010	-22,4 ± 0,569
8,5	249,4 ± 3,258	0,412 ± 0,007	-	244,5 ± 2,250	0,391 ± 0,009	-40,6 ± 0,764

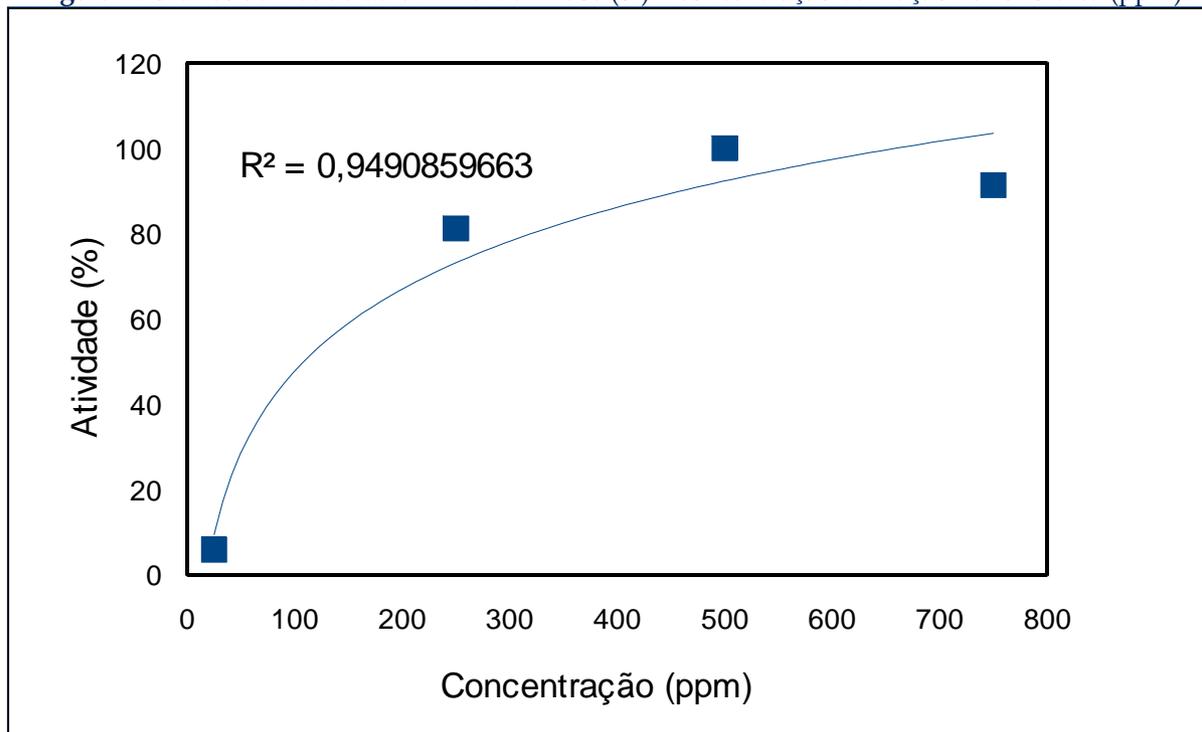
### • Ensaio inibitório da α-amilase

O ensaio objetivou quantificar a atividade da α-amilase perante o amido que está no meio reacional e resultará em maltose. A maltose é um dissacarídeo que reduz o DNSA gerando uma coloração alaranjada característica que tem absorvância em 540

nm. A reação que gera este efeito é a redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico para ácido 3-amino-5-nitrosalicílico e a oxidação dos grupos aldeídos da maltose a grupos carboxílicos (MILLER, 1959).

Realizado o ensaio de inibição da  $\alpha$ -amilase constatou-se que, em altas concentrações ( $> 1$  mg/mL), a fração flavonoídica de *Baccharis reticularia* apresentou até 100% de inibição sobre enzima. A partir disto foi feita a curva de inibição com concentrações de 0 a 1000 ppm da fração flavonoídica para determinar o valor de  $IC_{50}$  sobre a enzima  $\alpha$ -amilase. A amostra apresentou forte inibição da enzima com valor de  $IC_{50}$  igual a 108,4 ppm.

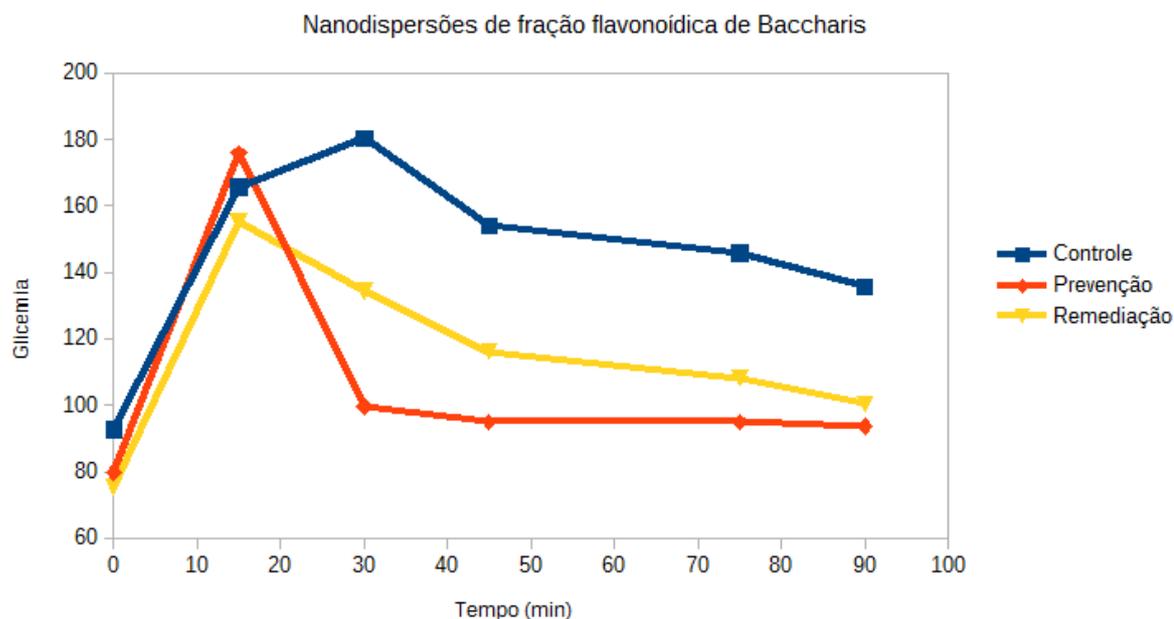
**Figura 2:** Gráfico atividade da enzima  $\alpha$ -amilase (%) x concentração da fração flavonoídica (ppm).



- **Curva de tolerância à glicose**

A nanodispersão da fração flavonoídica (1 mg/kg) foi capaz de diminuir a glicemia imediatamente após a administração de glicose.

**Figura 3:** Gráfico da curva de tolerância à glicose (glicemia x tempo).  
Curvas de glicemia



As áreas sob a curva foram estatisticamente diferentes do controle ( $p < 0,0001$ ).

## 4 DISCUSSÃO

A  $\alpha$ -amilase está presente no pâncreas e é uma enzima chave na digestão de carboidratos da dieta em humanos. Os inibidores dessas enzimas são efetivos no retardo da digestão de carboidratos, conseqüentemente diminuem a absorção de glicose, portanto, atuam na supressão da hiperglicemia pós-prandial (TADERA et al., 2006).

Os flavonoides são conhecidos inibidores dessas enzimas, no entanto, os flavonoides glicosilados têm potencial inibidor da  $\alpha$ -amilase muito menor em comparação com agliconas (TADERA et al., 2006)

Os flavonoides isolados a partir fração flavonoídica testada *in-vitro* e *in-vivo* foram identificados como agliconas, o que nos permite correlacionar com o forte potencial inibitório destas substâncias perante a enzima  $\alpha$ -amilase.

Em um estudo prévio correlacionou-se a quantidade de grupos hidroxilas no anel B com o aumento do potencial inibitório destas substâncias. As flavonas isoladas

neste estudo apresentam grupos hidroxilas no anel B nas seguintes posições: 3' e 4' (nepetina), 4' (hispidulina e apigenina) e 3' (diosmetina). Além disso, os flavonóis apresentam hidroxilas na posição 3' e 4' (patuletina) e as flavanonas na posição 3' e 4' (eriodictiol) e 4' (naringenina) (TADERA et al., 2006).

Este resultado justifica o que alguns estudos demonstram em relação ao uso intenso das espécies do gênero *Baccharis* para o tratamento de diabetes, perda de peso entre outros problemas de saúde do mesmo tipo (ABAD e BARMEJO).

## 5 CONCLUSÃO

Este foi o primeiro estudo sobre os flavonoides de *B. reticularia* e sua ação no metabolismo da glicose. Além disso, pela primeira vez foram desenvolvidas nanodispersões que podem ser utilizadas como adjuvantes no tratamento de doenças metabólicas como a diabetes.

## REFERÊNCIAS

- ABAD, M.J. & BERMEJO, P. **Baccharis (Compositae): a review update.** ARKIVOC (vii), p. 76-96, 2007.
- ALBUQUERQUE, M.R.J.R. et al. **Composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts of *Baccharis trinervis* (Lam.) Pers.** ARKIVOC, v. 66, p. 59-65, 2004.
- BERNFELD, P. *Methods in Enzymology* 1, p. 149-158, 1955.
- BURNS, D.C.; ELLIS, D. A.; MARCH, R. E. **A predictive tool for assessing <sup>13</sup>C NMR chemical shifts of flavonoids.** Magnetic Resonance in Chemistry, v. 45, p. 835-845, 2007.
- ENCARNACIÓN, D. R. et al. **Isolation of Eriodictyol Identical with Huazhongilexone from *Solanum hindsianum*.** Acta Chemica Scandinavica, v. 53, p. 375-377, 1999.
- HANEFELD, M. **The role of acarbose in the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus.** Journal of diabetes and its complications, v. 12, n. 4, p. 228-237, 1998.
- HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J. **The Flavonoids: Advances in Research.** London:

Chapman and Hall, 1982. 739 p.

IBRAHIM, A. S. et al. **O-Demethylation and Sulfation of 7-Methoxylated Flavones by *Cunninghamella elegans***. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, v. 51, n. 2, p. 203-206, 2003.

MARASCHIN, M. & VERPOORTE, R. **Engenharia do metabolismo secundário: otimização da produção de metabólitos secundários em culturas de células vegetais**. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, v. 10, p. 24-28, 1999.

MILLER, G. L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar**. Analytical Chemistry, v. 3, n. 3, 426-8, 1959.

OSEI-SAFO, D. et al. **Hispidulin and other constituents of *Scoparia Dulcis* Linn**. Journal of Science and Technology, v. 29, n. 2, p. 7-15, 2009. (10)

SANTOS, M.G. et al. **Plantas da Restinga: Potencial Econômico**. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, 2009. 139 p.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. et al. **Free Radical Scavengers and Antioxidants from *Tagetes mendocina***. Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, v. 59, n. 5-6, p. 345-353, 2004.

SEGHIRI, R. et al. **Phenolic Compounds from *Centaurea Africana***. Chemistry of Natural Compounds, v. 42, n. 5, p. 610-611, 2006.

SILVA, C.N.S. et al. **Development of Nanoemulsions with Tucumã (*Astrocaryum vulgare*) Fruits Oil**. Journal of Nanomedicine Research, v.2, n.2, p. 24-27, 2015.

TADERA, K et al. **Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids**. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, Tokyo, v. 52, n. 2, p. 149-153, 2006.

ZHANG, X.F.; TAN, B.K. **Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *Andrographis paniculata* in normal and diabetic rats**. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol, v. 27, p. 358-368, 2000.



# PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES COM DIABETES MELLITUS USUÁRIOS DA ATENÇÃO BÁSICA À SAÚDE

Quelly de Kássia Almeida Santos<sup>1</sup>

Ariely Nunes Ferreira de Almeida<sup>2</sup>

**Resumo:** O Diabetes *mellitus* é um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia, como resultado de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambos. Este estudo teve como objetivo Caracterizar os diabéticos tipo 2 assistidos pela Unidade Básica de Saúde Dr. Lélvio Silva, Macapá/AP, quanto aos aspectos sociodemográficos e clínicos. Trata-se de um estudo descritivo, transversal, quantitativo. Foi realizada entrevista direta com os diabéticos usuários da UBS, por meio de um formulário composto por variáveis sociodemográficas e clínicas. Foram entrevistados 15 diabéticos do tipo 2, 8 (53,3%) mulheres, com média de idade  $57,8 \pm 11,4$  anos; e 7 (46,7%) homens, com média de idade  $61,1 \pm 10,8$  anos. Dentre os participantes, 60% são pardos; 40% casados/união estável; 66,7% com ensino fundamental incompleto; 66,7% ocupam-se com os afazeres de casa e/ou são aposentados; 53,3% possui renda entre 1 a 2 salários mínimos. Quanto às variáveis clínicas, os diabéticos possuem tempo médio de diagnóstico da doença de  $10,7 \pm 8,3$  anos. Os fatores de risco da doença mais citados foram tabagismo (66,7%), sedentarismo (66,7%), antecedência familiar de diabetes (60%), hipertensão arterial (26,7%) e sobrepeso/obesidade (13,3%). As principais complicações da doença foram alterações visuais (73,3%), neuropatia diabética (66,7%) e hipertensão arterial (40%). Todos fazem tratamento medicamentoso, principalmente com Glibenclamida e Metformina. Apenas 26,7% praticam atividade física e 46,7% afirmam aderir uma dieta balanceada para controle da doença. Conhecer o perfil sociodemográfico e clínico de pacientes diabéticos serve como subsídio para nortear as estratégias de promoção à saúde desses indivíduos assistidos na rede primária de atenção à saúde.

**Palavras-chave:** Diabetes Mellitus, Epidemiologia Descritiva, Promoção da Saúde.

## 1 INTRODUÇÃO

O Diabetes *mellitus* (DM) é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia e associadas a complicações, disfunções e insuficiência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, cérebro, coração e vasos sanguíneos. Pode resultar de defeitos de secreção e/ou ação da insulina envolvendo processos patogênicos específicos, por exemplo, destruição das células beta do pâncreas (produtoras de insulina), resistência à ação da insulina, distúrbios da secreção da insulina, entre outras (BRASIL, 2006). Atualmente, estima-se que a população

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC-EM/CNPq/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNIFAP.

mundial com diabetes seja da ordem de 387 milhões e que alcance 471 milhões em 2035 (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

Os tipos de diabetes mais frequentes são: 1) o *diabetes mellitus tipo 1*, anteriormente conhecido como diabetes juvenil, que compreende cerca de 10% do total de casos. O termo tipo I indica destruição da célula beta que eventualmente leva ao estágio de deficiência absoluta de insulina; 2) o *diabetes mellitus tipo II*, anteriormente conhecido como diabetes do adulto, que compreende cerca de 90-95% do total de casos. O termo tipo II é usado para designar uma deficiência relativa de insulina. Existem outros tipos específicos de diabetes, menos frequentes, que podem resultar de defeitos genéticos da função das células beta, defeitos genéticos da ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino, endocrinopatias, efeito colateral de medicamentos, infecções e outras síndromes genéticas associadas ao diabetes (BRASIL, 2006).

Está bem demonstrado hoje que indivíduos em alto risco (com tolerância à glicose diminuída) podem prevenir ou ao menos retardar o aparecimento do diabetes tipo II. Por exemplo, mudanças de estilo de vida reduziram 58% da incidência de diabetes em três anos. Essas mudanças visavam discreta redução de peso (5-10% do peso), manutenção do peso perdido, aumento da ingestão de fibras, restrição energética moderada, restrição de gorduras, especialmente as saturadas, e aumento de atividade física regular. Além disso, alguns medicamentos utilizados no tratamento do diabetes, como a Metformina, também foram eficazes, reduzindo em 31% a incidência de diabetes em três anos. Esse efeito foi mais acentuado em pacientes com IMC > 35 kg/metro quadrado. Casos com alto risco de desenvolver diabetes, incluindo mulheres que tiveram diabetes gestacional, devem fazer investigação laboratorial periódica para avaliar sua regulação glicêmica. A caracterização do risco é feita de modo semelhante àquela feita para suspeita de diabetes assintomático (BRASIL, 2006).

A prevalência do diabetes aumenta com a idade, mas pode aparecer também na fase da adolescência. Logo, mesmo diante de políticas mundiais para o seu controle, o diabetes *mellitus* ainda é um desafio para a sociedade, devido às consequências que

traz consigo, como sofrimento, incapacidade e perda da produtividade (TRENTO BORTOLONI et al., 2010).

Dessa forma, esta pesquisa teve como objetivo principal traçar o perfil epidemiológico dos indivíduos diabéticos tipo 2, assistidos em uma Unidade Básica de Saúde de Macapá/AP, segundo variáveis sociodemográficas e clínicas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa faz parte de um projeto de pesquisa maior intitulado “*Qualidade de vida de diabéticos assistidos pela estratégia saúde da família: implicações para o papel do fisioterapeuta na atenção básica*”, aprovado pelo CEP/UNIFAP sob parecer nº FR-456146/011 e registrado no Departamento de pesquisa/UNIFAP sob nº 23125002338/2014-07.

Trata-se de uma pesquisa quantitativa, descritiva exploratória. Os dados foram coletados nas dependências da Unidade Básica de Saúde Dr. Lélío Silva, localizada no bairro Buritizal, Macapá, Amapá, durante os meses de novembro de 2015 a abril de 2016, mediante consentimento do diretor da referida UBS.

Participaram 15 diabéticos do tipo 2 (8 mulheres e 7 homens), na faixa etária de 36 a 80 anos. Os pacientes da UBS foram convidados a participar da entrevista para coleta de seus dados no momento em que estavam na UBS para realizar consulta. Neste momento, eram abordados pelas pesquisadoras, as quais explicavam os objetivos da pesquisa. Ao aceitarem participar, os diabéticos assinavam o termo de consentimento livre e esclarecido, previamente elaborado e aprovado pelo CEP/UNIFAP para o estudo.

Foi realizada entrevista com os participantes utilizando-se um formulário contendo perguntas sobre características sociodemográficas e clínicas (relacionadas à doença), construído pelas pesquisadoras.

As variáveis sociodemográficas foram sexo, idade, raça/cor, estado civil, escolaridade, profissão/ocupação e renda familiar (valor do salário mínimo nacional: R\$

880,00, conforme Decreto nº 8.618, de 29.12.2015). Por sua vez, as variáveis clínicas incluíram o tempo de diagnóstico da doença, fatores de riscos antecedentes ao aparecimento da doença, as complicações secundárias (surgidas a partir do diagnóstico da doença), as formas de tratamento adotadas por eles e os valores de glicemia em jejum. Para avaliação do controle glicêmico foi considerado a recomendação da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), a qual determina glicemia pré-prandial normal <100mg/dl (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

Para organização e estatística descritiva dos dados, utilizou-se o programa Microsoft Office Excel 2007. Utilizou-se a técnica de dupla digitação para evitar erros de transcrição de informações dos formulários para a planilha do Excel. Para as variáveis categóricas foram calculados os valores absolutos (n) e relativos (%), enquanto que, para as variáveis contínuas, as médias, desvios padrões, medianas. Os resultados são apresentados por meio de tabelas.

### 3 RESULTADOS

Dentre os 15 participantes, 8 são do sexo feminino (53,3%), na faixa etária entre 36 e 71 anos; e 7 são do sexo masculino (46,7%), com idades entre 50 e 80 anos. Desses, 9 (60%) são pardos, 6 (40%) convivem com companheiro (a), 10 (66,7%) possuem ensino fundamental incompleto. Quanto à profissão/ocupação, 10 (66,7%) referiram ser do lar e/ou estarem aposentados e 8 (53,3%) têm renda familiar entre 1 a 2 salários mínimos, **Tabela 1**.

**Tabela 1** - Distribuição dos diabéticos, segundo variáveis sociodemográficas.

Variáveis Sociodemográficas	Diabéticos (N=15)	
	n	%
<b>Sexo</b>		
Masculino	7	46,7
Feminino	8	53,3
<b>Idade (anos)</b>	<b>Média/DP</b>	<b>Mediana</b>
Masculino (Faixa etária: 50 a 80 anos)	64,9 ±9,7	66
Feminino (Faixa etária: 36 a 71 anos)	57,8 ±11,4	59,5
Grupo (Faixa etária: 36 a 80 anos)	61,1 ±10,9	62
<b>Raça/cor</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Parda	9	60

Negra	4	26,7
Branca	2	13,3
<b>Estado Civil</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Solteiro	3	20
Casado/União estável	6	40
Separado/Divorciado	2	13,3
Viúvo	4	26,7
<b>Escolaridade</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Analfabeto	3	20
Fundamental Incompleto	10	66,7
Médio Incompleto	1	6,7
Médio Completo	1	6,7
<b>Profissão/ocupação</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Autônomo	3	20
Do lar/Aposentado	10	66,7
Trabalhador Assalariado	2	13,3
<b>Renda familiar</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Menos de 1 salário mínimo	5	33,3
1-2 salários mínimos	8	53,3
3-4 salários mínimos	1	6,7
4 ou mais salários mínimos	1	6,7

Fonte: Dados do estudo.

As **Tabelas 2 e 3** mostram o tempo de diagnóstico e os fatores de risco e complicações relacionados à presença da doença, respectivamente.

**Tabela 2** – Tempo de diagnóstico do DM, usuários da UBS/Dr. Lélío Silva.

Tempo de diagnóstico (anos)	Min-Máx	Média/DP	Mediana
	1-25	10,7±8,3	10

Fonte: Dados do estudo.

**Tabela 3** – Fatores e Complicações do DM, usuários da UBS/Dr. Lélío Silva.

Fatores de risco	N	%
Antecedentes familiares	9	60
Tabagismo	10	66,7
Sedentarismo	10	66,7
Sobrepeso/Obesidade	2	13,3
Hipertensão arterial	4	26,7
Complicações secundárias	N	%
Hipertensão arterial	6	40
Cardiopatía isquêmica	2	13,3
AVC	2	13,3
Úlceras nos pés	2	13,3
Neuropatia diabética	10	66,7
Alterações visuais	11	73,3
Alterações renais	1	6,7

Fonte: Dados do estudo.

Em relação à medicação usada pelos diabéticos estão Glibenclamida (47,7%), Metformina (47,7%) e insulina (26,7%). Além disso, 46,7% dos indivíduos disseram

adotar dieta para controle da doença e apenas 26,7% afirmou praticar alguma atividade física, **Tabela 4**.

**Tabela 4-** Formas de tratamento dos diabéticos usuários da UBS/Dr. Lélío Silva

Formas de tratamento	N	%
Medicamentoso	15	100
<i>Glibenclamida</i>	7	46,7
<i>Metformina</i>	7	46,7
<i>Insulina</i>	4	26,7
<i>Outros</i>	5	33,3
Atividade física	4	26,7
Dieta balanceada	7	46,7

Fonte: Dados do estudo.

Quanto à glicemia em jejum, o grupo apresentou média de 149,5 ±69,4 mg/dl e mediana de 124 mg/dl, conforme **Tabela 5**. Ademais, a **Tabela 6** mostra os valores de glicemia em jejum segundo a recomendação de controle glicêmico da SBD (glicemia pré-prandial normal <100mg/dl).

**Tabela 5-** Valores descritivos de glicemia em jejum dos diabéticos, UBS/Dr.Lélío Silva.

Glicemia em jejum- mg/dl)	Min-Máx	Média/DP	Mediana
	60-250	149,5±69,4	124 mg/dl

Fonte: Dados do estudo.

**Tabela 6-** Níveis glicêmicos dos diabéticos usuários da UBS/Dr.Lélío Silva.

Controle Glicêmico (glicemia em jejum- mg/dl)	N	%
≤100	6	40
>100	9	60
Total	15	100

Fonte: Dados do estudo.

## 4 DISCUSSÃO

Constatou-se que, em relação ao perfil sociodemográfico dos entrevistados, a predominância de mulheres, pessoas em diferentes faixas etárias, pardas, casadas ou em união estável, aposentadas e com baixa escolaridade e renda, assemelha-se, comumente, com o perfil de diabéticos encontrados em outros estudos também realizados no contexto da Atenção Primária à Saúde no Brasil (ALMEIDA; CÁRDENAS, 2015; ARAÚJO et al., 2011; CHAGAS et al., 2013; FARIA; MORRAYE; SANTOS, 2013; FERREIRA; FERREIRA, 2009; SOUSA et al., 2015; WINKELMANN; FONTELA, 2014).

A importância de analisar o grau de instrução está em perceber o quanto à condição da escolaridade pode influenciar o acesso às informações, apresentando, consequentemente, menores oportunidades de aprendizagem relacionadas ao cuidado com a saúde. Muitas vezes o paciente diabético realiza sozinho o seu cuidado com a doença, e, este cuidado pode não ser o recomendado (GRILLO; GORINI, 2007).

O baixo nível econômico também merece atenção, pois pode interferir na adesão ao tratamento medicamentoso e alimentar desses pacientes. Portanto, é importante que as ações de saúde voltadas a esse público sejam consoantes com suas possibilidades econômicas, buscando assim um tratamento efetivo (TAVARES; CORTES; DIAS, 2010).

O tempo médio de diagnóstico da doença foi de  $10,7 \pm 8,3$  anos e mediana de 10 anos. É importante ao clínico perceber que os vários tipos de diabetes podem progredir para estágios avançados, sendo necessário o uso de insulina para o controle glicêmico. Além disso, antes do diabetes ser diagnosticado, já é possível observar alterações na regulação glicêmica (tolerância à glicose diminuída e glicemia de jejum alterada) e o seu reconhecimento pelo clínico permite a orientação de intervenções preventivas (BRASIL, 2006).

Quanto aos fatores de risco ao surgimento do diabetes, o estudo revelou que a maioria deles era tabagista (66,7%), sedentário (66,7%), tinha história na família de parentes com a doença (60%), já tinha hipertensão (26,7%) e estava com sobrepeso/obesidade (13,3%) antes de adoecer de diabetes.

Segundo o Brasil (2006) as causas modificáveis do diabetes tipo 2 são alimentação inadequada (qualidade e quantidade) e inatividade física. Portanto, não é de surpreender que mudanças positivas no estilo de vida, quando realizadas, sejam tão efetivas na prevenção e controle da doença quanto o tratamento medicamentoso.

Quanto às complicações da doença, as principais queixas foram alterações visuais (73,3%), neuropatia diabética (66,7%) e hipertensão arterial (40%).

A retinopatia diabética é uma das principais complicações relacionadas ao DM

e a principal causa de cegueira em pessoas com idade entre 20 e 74 anos. Após 20 anos de doença, mais de 90% dos diabéticos com o tipo 1 e 60% daqueles com o tipo 2 apresentarão algum grau de retinopatia. Portanto, em pacientes diabéticos, o acompanhamento oftalmológico é imprescindível para que a retinopatia seja tratada de maneira correta e evitem-se sequelas irreversíveis (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

Outra complicação crônica frequente do DM é a neuropatia diabética. Um grupo heterogêneo de síndromes clínicas que afetam regiões distintas do sistema nervoso causando uma ampla variedade de manifestações clínicas, compatíveis com disfunção de nervos periféricos em diabéticos após exclusão de outras causas (GERCHMAN et al., 2014). A neuropatia diabética é a primeira causa de amputação não traumática de membros inferiores em adultos, embora a maioria dos casos (50% a 75%) permaneça subdiagnosticada e assintomática (ROLIM et al., 2009).

Por sua vez, a hipertensão arterial está frequentemente associada, antes ou depois, ao surgimento do DM. Seu tratamento concomitante ao DM é importante para a prevenção de doenças cardiovasculares e minimizar os efeitos deletérios da doença renal e da retinopatia diabética. A terapêutica inicial inclui métodos não farmacológicos, como redução de peso, prática de exercícios físicos, moderação no consumo de sal e álcool e abandono do tabaco (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

No que concerne ao tratamento do DM, todos os pacientes faziam usam de antidiabéticos, principalmente Glibenclamida e Metformina, mas apenas 26,7% praticavam alguma atividade física e 46,7% seguiam uma dieta balanceada para o controle da doença, revelando uma baixa adesão nesses dois aspectos auxiliares e importantes do tratamento. Dados semelhantes foram evidenciados em outros estudos com diabéticos de unidades de Atenção Primária à saúde (FARIA; MORRAYE; SANTOS, 2013; MARINHO et al., 2012; SOUSA et al., 2015), indicando que a falta de adesão à atividade física/práticas corporais e ao consumo adequado de alimentos é um problema no

cuidado ao diabetes.

Para avaliação do controle glicêmico adotam-se o teste de glicemia e o de hemoglobina glicada (HbA1c), onde o primeiro reflete o nível glicêmico atual e instantâneo no momento exato em que foi realizado, enquanto o segundo, revela a glicemia média pregressa dos últimos 4 meses (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016). Neste estudo, os valores de glicemia em jejum, segundo a recomendação de controle glicêmico determinada pela SBD (glicemia pré-prandial normal <100mg/dl), estavam acima do normal em 60% dos diabéticos, revelando um déficit de controle glicêmico.

De forma geral, os objetivos do tratamento os diabéticos são proporcionar condições adequadas para viver com a doença, buscando a prevenção das complicações agudas e crônicas da doença. Por meio da assistência da equipe multidisciplinar, estes objetivos são alcançados mantendo o foco em educação, no plano alimentar, exercícios, administração de insulina, monitoração do tratamento e prevenção das complicações crônicas (GRILLO; GORINI, 2007). Todavia, essas mudanças são consideradas como um processo lento e difícil, pois exige modificações de costumes relacionados a fatores culturais, sociais e econômicos (PÉREZ et al.,2007). Por isso, a educação em saúde para o diabético é considerada como:

(...) um processo de responsabilidade dos serviços de saúde, das instituições sociais e da população para a qual se dirige. Por conta disso, faz-se necessário levar em consideração a opinião da população sobre suas necessidades reais e as sentidas, as quais são distintas das percebidas pelos profissionais de saúde. É imprescindível conhecer e respeitar os valores, as tradições e os estereótipos, bem como fomentar a responsabilidade individual e comunitária por meio de métodos participativos de educação (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016, p. 225).

Indivíduos em risco de desenvolver DM tipo 2 devem ser estimulados a mudanças de estilo de vida, a partir de programas educativos baseados em perda moderada de peso corporal e prática semanal de atividade física. As estratégias nutricionais incluem redução energética e de gorduras, ingestão de 14 g fibras/1.000 kcal (grãos integrais, leguminosas, hortaliças e frutas) e evitar a ingestão de bebidas doces.

Quanto à prescrição de exercícios físicos aos diabéticos, deve incluir exercícios aeróbicos, de resistência/fortalecimento muscular e flexibilidade. Recomenda-se atividade aeróbica diária, ou pelo menos 3 dias da semana. A duração de um exercício deve ser planejada para evitar a hipoglicemia, geralmente sendo necessária a reposição de carboidratos quando a atividade tiver duração > 60 minutos. A recomendação mais atual para diabéticos é de 150 minutos de exercícios de moderada intensidade ou 75 minutos de alta intensidade (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015-2016).

## 5 CONCLUSÃO

O diabetes *mellitus* é um grave problema de saúde pública que afeta cada vez mais pessoas, em diferentes faixas etárias, no mundo todo. Traz sérias complicações aos portadores, interferindo na produtividade e qualidade de vida. Acredita-se que o conhecimento das características sociodemográficas e clínicas dos diabéticos proporcionam subsídios para o planejamento de uma melhor assistência a esses indivíduos. Uma assistência mais humanizada e mais adequada as reais necessidades dos portadores, fazendo com que suas necessidades sejam atendidas da melhor forma.

Nesta pesquisa foi possível investigar o perfil epidemiológico de 15 indivíduos diabéticos tipo 2, sendo a maioria mulheres, na faixa etária de 36 a 71 anos, autodeclarados pardos, casados ou em união estável, aposentados ou do lar, com baixa escolaridade e renda, vivendo em média 10 anos com diabetes. Além disso, os entrevistados têm baixa adesão à atividade física regular e à dieta balanceada, e a maioria possui deficiência no controle glicêmico, apresentando glicemia em jejum acima dos valores recomendados. Os fatores de risco mais presentes foram tabagismo, sedentarismo e presença de casos da doença em familiares de primeiro grau. As complicações mais frequentes foram as alterações visuais, neuropatia diabética e hipertensão arterial.

Por fim, esta pesquisa cumpriu com o objetivo de identificar alguns aspectos sociodemográficos e clínicos relacionados à doença que devem ser levados em consi-

deração no planejamento da assistência a esses indivíduos, e destaca que a existência da equipe multiprofissional, na rotina da Atenção Primária à Saúde, se faz extremamente necessária para a efetivação de um cuidado realmente integral.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. N. F DE; CÁRDENAS, A. M. C. Caracterização epidemiológica de pacientes com diabetes mellitus tipo 2 de uma Unidade Básica de Saúde de Macapá, Amapá. **Revista de Biologia e Ciências da terra**. v.15,n.1, p. 31-41, 2015.
- ARAÚJO, M. F. M. Cumprimento da terapia com antidiabéticos orais em usuários da atenção primária. **Texto Contexto Enferm**, Florianópolis, v. 20, n. 1, p. 135-43, 2011.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Diabetes Mellitus / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2006. 64 p. il. – (**Cadernos de Atenção Básica, n. 16**) (Série A. Normas e Manuais Técnicos)
- BRASIL. Decreto n. ° 8.618, de 29 de dezembro de 2015. Salário Mínimo Brasileiro de 2016. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez 2015. Disponível em: <[http://www.portalbrasil.net/salariominimo\\_2016.htm](http://www.portalbrasil.net/salariominimo_2016.htm)>. Acesso em: 02/08/2016.
- CHAGAS, I. A. et al. Conhecimento de pacientes com diabetes sobre tratamento após cinco anos do término de um programa educativo. **Rev Esc Enferm USP**, v. 47, n. 5, p. 1141-6, 2013.
- DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (2015-2016)/ Adolfo Milech...[et. al.]; organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio - São Paulo: A.C. Farmacêutica, 2016.
- FARIA, C. C. C; MORRAYE, M. A; SANTOS, B. M. O. O diabético numa perspectiva da promoção de saúde. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 26, n. 1, p. 26-35, 2013.
- FERREIRA, C. L. R. A; FERREIRA, M. G. Características epidemiológicas de pacientes diabéticos da rede pública de saúde – análise a partir do sistema HiperDia. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v. 53, n.1, 2009.
- GERCHMAN, F. et al. Neuropatia Diabética. **Educação Médica Continuada em Dor**, 2014. Disponível em: <[http://pedroschestatsky.com.br/\\_files/livroeditado/2/53f9256b7b80e.pdf](http://pedroschestatsky.com.br/_files/livroeditado/2/53f9256b7b80e.pdf)>. Acesso em: 08/11/2016.

- GRILLO, Maria de Fátima Ferreira; GORINI, Maria Isabel Pinto Coelho. Caracterização de pessoas com Diabetes Mellitus tipo 2. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, DF, v. 10, n. 1, jan./fev. 2007.
- MARINHO, N. B. P. et al. Diabetes *mellitus*: fatores associados entre usuários da Estratégia Saúde da Família. **Acta Paul Enferm.** v. 25, n. 4, p. 595-600, 2012.
- PÉREZ, D. S et al. Difficulties of diabetic patients in the illness control: feelings and behaviors. **Rev. Latino-am Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 6, p. 1105-12, nov-dez. 2007.
- ROLIM, L. C. et al. Heterogeneidade clínica e coexistência das neuropatias diabéticas: diferenças e semelhanças entre diabetes melito tipos 1 e 2. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v. 53, n. 7, 2009.
- SOUSA, J. T. Autocuidado e parâmetros clínicos em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. **Rev Rene**, v.16, n. 4, p. 479-5, 2015.
- TAVARES, D. M. S; CORTES, R. M ; DIAS, F.A. Qualidade de Vida e Comorbidades entre os idosos diabéticos. **Rev. Enferm. UERJ**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 1, p. 97-103, jan-mar. 2010.
- TRENTO BORTOLONI, E. T. et al. Perfil epidemiológico dos diabéticos do município de Água Doce, SC. **Evidência**, Joaçaba v. 10 n. 1-2, p. 131-138, janeiro/dezembro, 2010.
- WINKELMANN, E. R.; FONTELA, P. C. Condições de saúde de pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 cadastrados na Estratégia Saúde da Família, em Ijuí, Rio Grande do Sul, 2010-2013. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 665-674, 2014.

# QUALIDADE DE VIDA DO IDOSO NA UNIVERSIDADE ABERTA À TERCEIRA IDADE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ: UMAP

Danielle Sousa da Silva<sup>1</sup>

Anneli Mercedes Celis de Cárdenas<sup>2</sup>

**RESUMO:** O Termo “qualidade de vida” é um tema abrangente, que envolve múltiplas definições, as quais enfatizam a ideia de bem-estar físico, emocional, social, econômico, satisfação com a própria vida e, ainda, boas condições de saúde, educação, moradia, transporte, lazer e crescimento individual, a compreensão de qualidade de vida na velhice está atrelada ao significado de velhice dado pelos idosos. Com isso este estudo tem como objetivo avaliar a qualidade de vida dos idosos inseridos na Universidade da Maturidade do Amapá, através do questionário denominado WHOQOL-bref, a, caracterizar a população quanto a dados sociodemográficos e de estilo de vida identificando os domínios representativos da qualidade de vida dos idosos da UMAP. A pesquisa permitiu a compreensão sobre os aspectos sociodemográficos dos idosos alunos da universidade da maturidade da UNIFAP, identificando a predominância de indivíduos do sexo feminino, com idades variando principalmente entre 60-70 anos, e renda com média de 1 salário mínimo. Quanto à qualidade de vida, o instrumento WHOQOL-Bref evidenciou uma avaliação regular da mesma, sendo os que mais possuem maior representatividade na qualidade de vida o domínio psicológico e ambiental, e com menor representatividade o domínio referente as relações sociais, demonstrado a importância das atividades realizadas no contexto da UMAP para o bem estar físico e mental do idoso. Concluiu-se a importância da realização de estudos para verificar a influência dos domínios na QV ao longo do processo de envelhecimento. É necessário desenvolver estratégias de planejamento, implementação e avaliação de programas de promoção de saúde do idoso, garantindo melhores condições de vida e saúde, de modo a propiciar um envelhecimento saudável e, conseqüentemente, melhor qualidade de vida.

**Palavras-chave:** Qualidade De Vida, Idoso, UMAP

## 1. INTRODUÇÃO

**E**nvelhecer é um fenômeno universal, à medida que a pessoa envelhece, acentuam-se muitas perdas sejam estas biológicas que alteram seus padrões metabólicos; ocorre perda progressiva da memória, a cognição e a comunicação, que se pode agravar por problemas orgânicos e psicológicos. A proximidade da morte, a incerteza em relação a doenças e o risco crescente de dependência são fatores importantes na perda do senso de auto eficácia.

Segundo dados do IBGE 15% da população brasileira terão mais de 60 anos no

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq/UNIFAP, vigência 2015-2016.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Enfermagem da UNIFAP.

próximo milênio. Este aumento demográfico deve-se aos avanços tecnológicos, retardamento do envelhecimento e melhor qualidade de vida (QV). Existe uma relação direta entre bem-estar psicológico na velhice com a satisfação pessoal e familiar, atividade física e saúde, senso de controle e de valorização do passado, perspectiva do futuro, ponto de vista sobre a morte, entre outros. Uma boa QV na velhice não é atributo ou responsabilidade de indivíduos, mas produto de uma interação de fatores individuais e socioculturais.

Em 1973, a primeira Universidade da Terceira Idade (Université Du Troisième Âge) voltada para o ensino e a pesquisa foi criada em Toulouse por idealização de Pierre Vellas (HEBESTREIT et al, 2006). A proposta inovadora de abrir a universidade aos idosos sem distinção de classe social ou escolaridade tinha como princípio o preenchimento produtivo do tempo livre por meio de atividades episódicas de cunho intelectual, artístico, de lazer e de atividades físicas. A intenção era minimizar o isolamento, favorecer o fomento da saúde, do bem-estar e do interesse pela vida que modificaria a imagem pessimista do envelhecimento (VELLOSO, 2004).

Para a Organização Mundial de Saúde (OMS, 1998), até o ano 2025 a população idosa brasileira crescerá 16 vezes, contra cinco da população total. Fato pelo qual classifica um país como a sexta população do mundo em idosos, correspondendo a mais de 34 milhões de pessoas com sessenta anos ou mais idade.

Segundo Ramos (2003), a sociedade deve entender que o processo de envelhecimento é dinâmico, progressivo, caracterizado por diversas manifestações nos campos biológico, psíquico e social, que ocorre ao longo da vida e de forma diferenciada em cada indivíduo. Portanto, envelhecimento saudável é a interação multidimensional entre saúde física, saúde mental, independência na vida diária, integração social, suporte familiar e independência econômica.

O conceito de QV está relacionado à autoestima e ao bem-estar pessoal e abrange uma série de aspectos como a capacidade funcional, o nível socioeconômico, [...], auto cuidado, o suporte familiar [...] (VECCHIA et al., 2005).

Não se pode analisar a QV, na área da saúde, por um único aspecto, visto que envolve muitos fatores e se apresenta em vários modelos. Os modelos de qualidade de vida vão desde a “satisfação com a vida” ou “bem-estar social” a modelos baseados em conceitos de independência, controle, competências sócias e cognitivas (SOUZA et al, 2003).

O conceito de QV é visto neste trabalho como expressão da melhor satisfação subjetiva de uma pessoa em dada circunstância, conforme a rede de atenção de que dispõe e a capacidade de autodeterminar vontades, desejos, necessidades e a condução da própria vida. Assim, a compreensão de qualidade de vida na velhice está atrelada ao significado de velhice dado pelos idosos. Para isso se devem considerar as referências às mudanças do corpo e às imagens desse corpo, os contrastes sociais e culturais que caracterizam o curso de vida, se o passado foi marcado pela busca de sobrevivência, pelo trabalho com poucas garantias ou não e se hoje, na velhice, sobrevivem com a ajuda de familiares ou são independentes.

Com isso este trabalho tem o objetivo de Avaliar a qualidade de vida dos idosos inseridos na Universidade da Maturidade do Amapá, através de um questionário denominado WHOQOL-bref, adotado pela OMS (Organização Mundial de Saúde). Caracteriza a inquietude dos pesquisadores em conhecer a complexidade inerente dos idosos que frequentam a universidade da Maturidade do Amapá, buscando analisar a qualidade de vida dos mesmos. Outro fator importante, é o aumento da expectativa de vida da população brasileira, o número de brasileiros acima de 65 anos deve praticamente quadruplicar até 2060, confirmando a tendência de envelhecimento acelerado da população já apontada por demógrafos. (IBGE,2013)

É relevante este estudo também para o meio acadêmico na medida em que será disponibilizado como fonte de consulta para ampliação de conhecimentos acerca da temática abordada, pois não foi encontrado nenhum trabalho publicado no âmbito local que trate especificamente do referido tema.

E ainda pela inexistência de estudos no estado de Amapá, que tratam da quali-

dade de vida do idoso e mais especificamente que relatam essa qualidade de vida segundo a visão do próprio idoso, esperando contribuir para elucidação deste aspecto, bem como subsidiar a melhoria da qualidade de vida destes idosos, proporcionando uma base científica para formulações de políticas e programas voltadas para atenção a qualidade de vida do idoso.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 TIPO DE ESTUDO**

Trata-se de uma pesquisa de natureza quantitativa do tipo exploratório, de corte transversal, O objetivo de uma pesquisa exploratória é familiarizar-se com um assunto ainda pouco conhecido, pouco explorado. Ao final de uma pesquisa exploratória, você conhecerá mais sobre aquele assunto, e estará apto a construir hipóteses. Como qualquer exploração, a pesquisa exploratória depende da intuição do explorador que permitirá identificar os domínios (GIL, 2008).

### **2.2 LOCAL E POPULAÇÃO DE ESTUDO**

O local de estudo foi o prédio da Universidade da Maturidade, localizado dentro do campus marco zero da Universidade Federal do Amapá. A população de estudo utilizada foram alunos matriculados regularmente na UMAP. Atualmente possui duas turmas no turno vespertino, cada uma é composta por 50 alunos, totalizando 100 alunos. A população estudada obedeceu aos seguintes critérios de inclusão: ser estudante da UMAP; responder ao questionário mesmo que de forma verbal para um dos pesquisadores, e aceitar participar da pesquisa assinando Termo De Consentimento Livre E Esclarecido (TCLE), e foram excluídos da pesquisa os que não são estudantes da UMAP e que não aceitaram assinar o Termo De Consentimento Livre E Esclarecido (TCLE). A pesquisa foi realizada no período março e abril de 2016.

## 2.3 COLETA DE DADOS

Os instrumentos que foram utilizados na pesquisa para coleta de dados foram: O questionário WHOQOL-bref (World Health Organization Quality of Life), questionário composto de 26 questões criados pela Organização Mundial de Saúde (OMS), e o outro instrumento de coleta de dados foi um questionário de dados sociodemográficos de cada pessoa estudada como o nome, idade, sexo, estado civil, grupo familiar, etc. O WHOQOL-bref que é uma abreviação do questionário WHOQOL-100, que foi desenvolvido pelo Grupo de Qualidade de Vida da Organização Mundial de Saúde. Ele analisa como as pessoas avaliam a sua qualidade de vida através de facetas, que tem como critério de seleção das questões o fator tanto psicométrico como conceitual, cada uma das 24 facetas que compõem o WHOQOL-100 está representa por uma questão no WHOQOL-bref (FLECK et al, 200).

## 2.4 ASPECTOS ÉTICOS

A resolução nº 466/2012 que trata de pesquisas e testes em seres humanos, define a obrigatoriedade de que os participantes, ou representantes deles, sejam esclarecidos sobre os procedimentos adotados durante toda a pesquisa e sobre os possíveis riscos e benefícios. Operacionalização da coleta dos dados foi feita após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFAP pelo parecer número 1.422.698. Antes de coleta foi feita uma orientação para cada um dos entrevistados, informando os objetivos, da confidencialidade dos dados. As entrevistas foram feitas com os idosos que se dispuseram a participar do estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## 2.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram tratados estatisticamente com base em frequências absolutas (n) e relativas (%). Os dados obtidos por meio do WHOQOL-bref foram tratados em

função de cada domínio por meio de uma análise estatística descritiva, os mesmos foram tabulados, inseridos no software Microsoft Excel 2013. A ferramenta utilizada neste estudo foi proposta por Pedroso, Pilatti e Reis (2009), esta fora testada em diferentes versões do software Microsoft Office, e simulações com dados reais de aplicações do WHOQOL-bref, comparando com os dados obtidos através da ferramenta proposta com os obtidos no SPSS, não houve divergência de dados. Desta forma os escores dos domínios com pontuação de 0 a 5 foram convertidos para uma escala de 0 a 100 (resultados em %), onde quanto maior a porcentagem (mais próximo de 100%) melhor a qualidade de vida.

### 3 RESULTADOS

A foi população foi constituída por alunos matriculados na Universidade da Maturidade Da Universidade Federal do Amapá- UMAP e que aceitaram responder o questionário socioeconômico e o instrumento WHOQOL-bref, totalizando 44 entrevistados, sendo 70,4% do sexo feminino e 29,6% do sexo masculino. Com idade entre 57 e 76 anos, e média de idade de 64,09 anos. Quanto ao estado civil, 63,63% se declararam-se casados ou em união estável, 13,63% solteiros e 22,72% viúvos.

A seguir serão apresentados os resultados, conforme a ordem dos objetivos proposto neste estudo a luz das evidências de outros estudos e o referencial teórico utilizado, caracterizando aos idosos da UMAP, quanto as variáveis sociodemográficas obtidas pelo instrumento socioeconômico utilizado neste estudo.

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA

**Tabela 1** - Distribuição dos idosos, segundo variável sóciodemográfica. Macapá-AP, 2016, (n= 44).

Variáveis Sociodemograficas	Idosos UMAP	
	N	(%)
<b>GÊNERO</b>		
Masculino	13	29,6
Feminino	31	70,4
<b>IDADE</b>		
50-60 anos	6	13,63
60-70 anos	33	75

Acima de 70 anos	5	11,3
<b>ESTADO CIVIL</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
Casado ou em união estável	28	63,63
Solteiros	6	13,63
Viúvo	10	22,72
<b>RENDA FAMILIAR</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
≤1 salário mínimo	5	12,5%
1 salário mínimo	32	80%
≥ 2 salários mínimos	6	15%
Acima de 3 salários mínimos	1	2,5%
<b>TOTAL</b>	<b>44</b>	<b>100</b>

Fonte: Instrumento de coleta de dados sociodemográfico

### 3.2 CARACTERIZAÇÃO RELACIONADA À SAÚDE E ESTILO DE VIDA

Os idosos entrevistados também responderam perguntas quanto a realização de atividades físicas, nutrição e padrão de sono, os dados foram organizadas em tabelas, conforme segue abaixo:

Tabela 02- Distribuição dos idosos, segundo caracterização relacionada à saúde e estilo de vida Macapá-AP, 2016, (n=44).

Variáveis	Idosos UMAP	
Estilo de Vida	Nº	%
<b>FAZ USO DE BEBIDA ALCOÓLICA</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Sim	26	59,09
Não	16	40,90
<b>USO DE CIGARRO</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Sim	10	22,72
Não	34	77,27
<b>HÁBITOS NUTRICIONAIS</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Dieta balanceada	24	54,54
Frequentemente com excessos	20	45,45
<b>PADRÃO DE SONO</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Durmo bem e me sinto descansado	18	40,90
Acordo várias vezes durante a noite	17	38,63
Insônia frequente	9	20,45
<b>TOTAL</b>	<b>44</b>	<b>100</b>

Fonte: Instrumento de coleta de dados sociodemográfico

### 3.3 QUALIDADE DE VIDA DOS IDOSOS DA UMAP SEGUNDO O WHOQOL-BREF

O módulo WHOQOL-BREF é constituído de 26 perguntas, sendo duas questões sobre auto avaliação da qualidade de vida, e 24 questões, divididas em quatro domínios: físicos, psicológico, relações sociais e meio-ambiente, conforme apresentado no quadro 1:

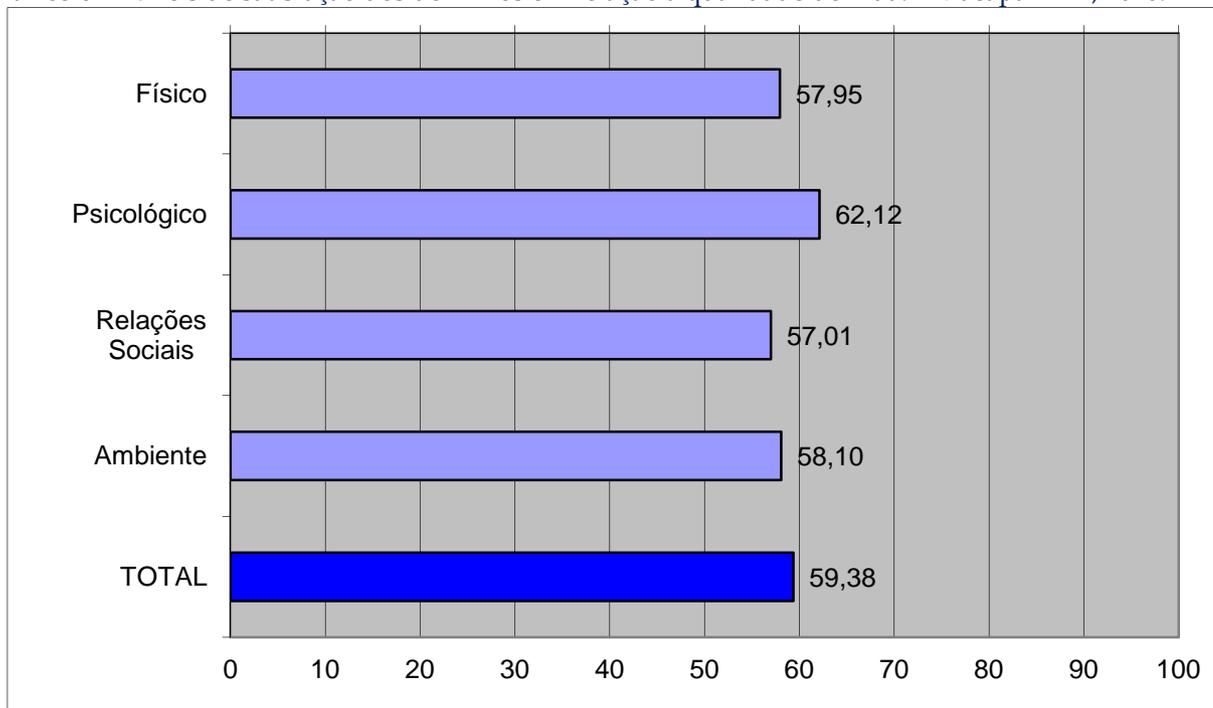
**Quadro 1-** Domínios e facetas WHOQOL-BREF

<b>Domínio 1- Domínio físico</b>	<b>1. Dor e desconforto</b> <b>2. Energia e fadiga</b> <b>3. Sono e repouso</b> <b>9. Mobilidade</b> <b>10. Atividades da vida cotidiana</b> <b>11. Dependência de medicação ou de tratamentos</b> <b>12. Capacidade de trabalho</b>
<b>Domínio 2- Domínio psicológico</b>	4. Sentimentos positivos 5. Pensar, aprender, memória e concentração 6. Auto-estima 7. Imagem corporal e aparência 8. Sentimentos negativos 24. Espiritualidade/religião/crenças pessoais
<b>Domínio 3- Relações sociais</b>	13. Relações pessoais 14. Suporte (Apoio) social 15. Atividade sexual
<b>Domínio 4- Meio ambiente</b>	16. Segurança física e proteção 17. Ambiente no lar 18. Recursos financeiros 19. Cuidados de saúde e sociais: disponibilidade e qualidade 20. Oportunidades de adquirir novas informações e habilidades 21. Participação em, e oportunidades de recreação/ lazer 22. Ambiente físico: (poluição/ruído/trânsito/clima) 23. Transporte

Após a coleta dos dados, os mesmos foram tabulados, inseridos no software Microsoft Excel 2013. A ferramenta utilizada neste estudo foi proposta por Pedroso, Pilatti e Reis (2009), esta fora testada em diferentes versões do software Microsoft Office, e simulações com dados reais de aplicações do WHOQOL-bref, comparando com os dados obtidos através da ferramenta proposta com os obtidos no SPSS, não houve divergência de dados. Desta forma os escores dos domínios foram convertidos para uma escala de 0 a 100 (resultados em %), onde quanto maior a porcentagem (mais próximo de 100%) melhor a qualidade de vida. Observamos os domínios separadamente, podemos constatar que o domínio psicológico teve a média mais representativa em relação aos outros domínios do WHOQOL\_BREF, conforme pode ser visto no Gráfico 01.

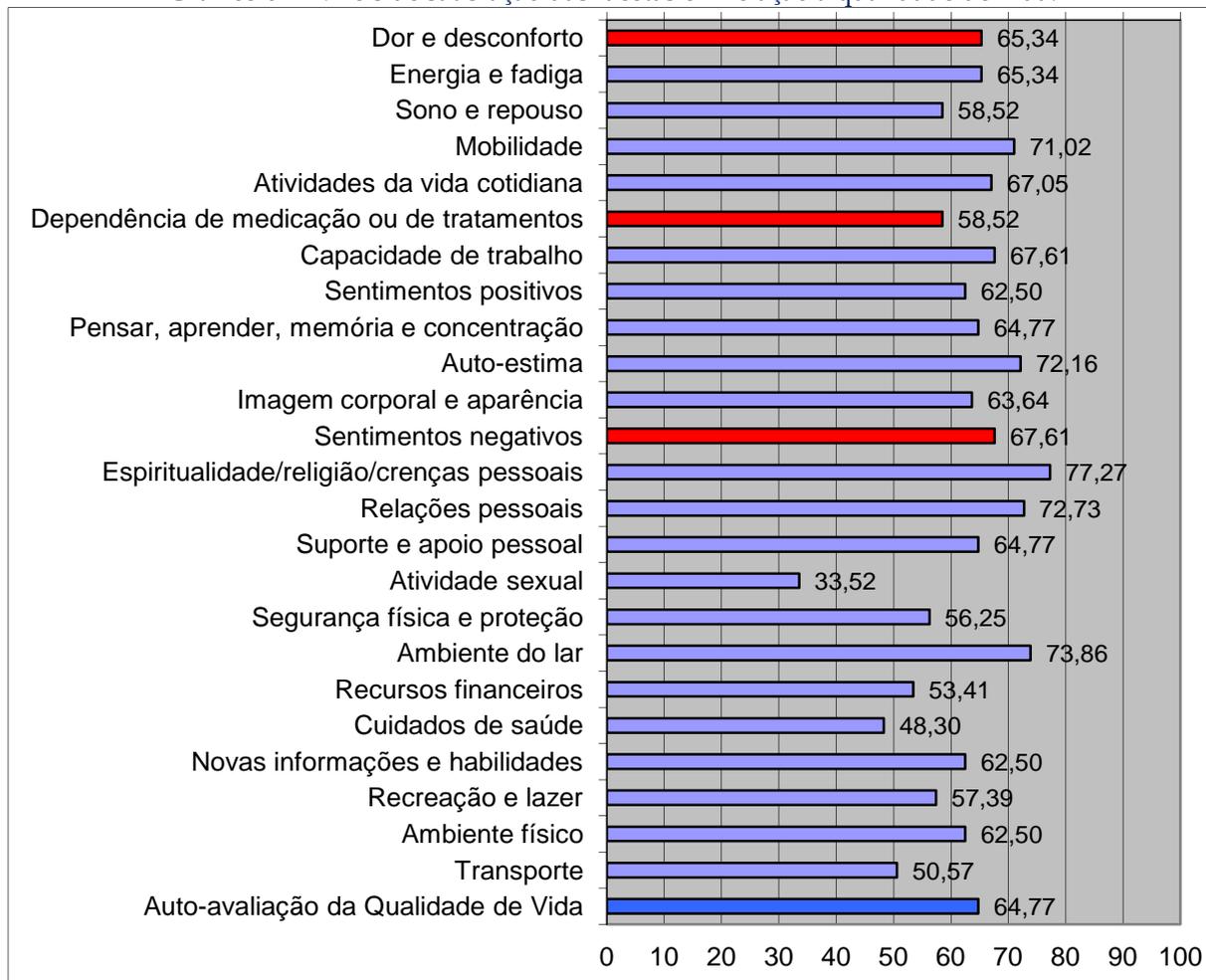
Nos domínios relações sociais e físico não houve muita diferença entre as médias, já quanto ao domínio de Meio Ambiente foi o que apresentou o escore médio de QV semelhante aos domínios anteriores, o melhor escore médio da QV, corresponde ao domínio psicológico (62,12%).

Gráfico 01- Níveis de satisfação dos domínios em relação à qualidade de vida. - Macapá - AP, 2016.



Analisando separadamente as 26 facetas encontradas no WHOQOL-bref, observamos a representatividade menor na faceta referente a atividade sexual (33,52%), e maior representatividade da faceta referente a espiritualidade/religião e crenças (77,27%), conforme demonstra o gráfico 2.

Gráfico 02- Níveis de satisfação das facetas em relação à qualidade de vida.



Fonte: Questionário WHOQOL

A avaliação da qualidade de vida pelo *Whoqol-bref* foi realizada seguindo os procedimentos sugeridos na sua validação para a língua portuguesa e utilizando-se de sua sintaxe própria (Fleck, 2000). O instrumento, formado por 26 questões (facetas), é composto por duas questões gerais e mais 24 questões que são agrupadas em quatro domínios (físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente). As questões são apresentadas para uma escala de respostas do tipo *Likert*, utilizando-se os seguintes parâmetros: intensidade (nada - extremamente), capacidade (nada - completamente), frequência (nunca - sempre) e avaliação (muito insatisfeito - muito satisfeito; muito ruim - muito bom).

A qualidade de vida geral refere-se à média das duas questões gerais do *Whoqolbref* (Q1 e Q2) e é avaliada independente das outras questões e domínios. Por se tra-

tar de um construto multidimensional, não existe um único escore como resultado, mas um escore para cada domínio e outro para a qualidade de vida geral.

A avaliação da qualidade de vida pelo *Whoqol-bref* apresenta um escore para cada domínio e outro para a qualidade de vida geral que foi obtido considerando uma média das duas questões gerais (satisfação com a qualidade de vida e satisfação com a saúde) enquanto os escores dos domínios físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente foram obtidos a partir das questões relacionadas a cada domínio.

Os escores médios do Whoqol-bref e das questões gerais de qualidade de vida e seus respectivos desvios padrão, coeficiente de variação, valor mínimo e máximo dos educadores sociais estão apresentados na Tabela 9 a seguir:

**Tabela 03-** Análise descritiva questões gerais do Whoqol-bref: média, desvio padrão, coeficiente de variação, valor mínimo e valor máximo dos domínio e amplitude.

QUESTÃO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO	VALOR MÍNIMO	VALOR MÁXIMO	AMPLITUDE
Q1	3,77	0,86	22,77	1	5	4
Q2	3,41	0,84	24,76	1	4	3
Q3	3,61	1,06	29,37	1	5	4
Q4	3,34	1,03	30,92	2	5	3
Q5	3,50	1,00	28,57	2	5	3
Q6	3,89	0,78	20,17	3	5	2
Q7	3,59	0,87	24,26	2	5	3
Q8	3,25	1,01	31,21	1	5	4
Q9	3,50	0,79	22,64	2	5	3
Q10	3,61	0,92	25,47	2	5	3
Q11	3,55	0,98	27,51	2	5	3
Q12	3,14	0,98	31,20	2	5	3
Q13	3,50	0,70	19,97	2	5	3
Q14	3,30	1,11	33,74	2	5	3
Q15	3,84	0,81	20,97	2	5	3
Q16	3,34	0,89	26,57	2	5	3
Q17	3,68	0,91	24,69	2	5	3
Q18	3,70	0,90	24,41	2	5	3
Q19	4,09	0,88	21,62	3	5	2
Q20	3,91	0,83	21,24	2	5	3
Q21	3,59	1,27	54,46	1	5	4
Q22	2,34	0,76	21,08	2	5	3
Q23	3,95	0,96	24,36	2	5	3
Q24	2,93	1,17	39,88	1	5	4
Q25	3,02	1,07	35,31	2	5	3
Q26	3,70	0,90	24,41	1	5	4

Fonte: Questionário WHOQOL

Conforme mostra as tabelas a seguir, dividimos os domínios com suas respecti-

vas facetas para demonstrar a representatividade de cada faceta inserida em seu domínio.

**Tabela 04:** Escores médios das Facetas do Domínio Físico

<b>Domínio Físico</b>	<b>MÉDIA (0 a 5)</b>	<b>% (0 a 100)</b>
Dor e desconforto	3,61	65,34
Energia e fadiga	3,34	65,34
Sono e Repouso	3,61	58,52
Mobilidade	3,84	71,02
Atividades da vida Cotidiana	3,34	67,05
Dependência de medicação ou tratamentos	3,68	41,48
Capacidade de trabalho	3,70	67,65

Fonte: Questionário WHOQOL-Bref

**Tabela 05:** Escores médios das Facetas do Domínio Psicológico.

<b>Domínio Psicológico</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Sentimentos positivos	3,50	62,50
Pensar, aprender, memória e concentração	3,89	64,77
Auto-estima	3,59	72,16
Imagem corporal e aparência	3,55	63,64
Sentimentos negativos	4,09	67,61
Espiritualidade/religião/crenças pessoais	3,70	77,27

Fonte: Questionário Whoqol

**Tabela 06:** Escores Médios Das Facetas Do Domínio Relações Sociais

<b>Relações sociais</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Relações pessoais	3,91	72,77
Suporte (apoio) social	33,59	64,7
Atividade sexual	3,89	33,52
Auto-estima	2,34	72,16

Fonte: Questionário Whoqol

**Tabela 07-** Escores Médios Das Facetas Do Domínio Meio ambiente

<b>Domínio meio ambiente</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Segurança física e proteção	3,25	56,25
Ambiente no lar	3,50	73,86
Recursos financeiros	3,14	53,41
Cuidados de saúde e sociais	3,50	48,30
Oportunidade de adquirir novas informações e habilidades	3,30	62,50
Ambiente e oportunidades de recreação e lazer	3,95	67,39
Ambiente físico	2,93	62,50
Transporte	3,02	50,57

Fonte: Questionário WHOQOL

## 4. DISCUSSÃO

O levantamento do IBGE em 2015, mostrou o envelhecimento da população, que é composta por 201,5 milhões de pessoas, dos quais 13% são idosos, com mais de 60 anos, cuja parcela aumentou, em relação ao ano anterior, quando eram 12,6% do total. Eles são 26,1 milhões de brasileiros. Com isso, faz-se necessário o desenvolvimento de políticas e programas que visem promover a qualidade de vida dessa população, como o proposto pela Universidade da Maturidade-UMAP, projeto de extensão UMAP, que visa oferecer uma educação permanente ao idoso, propiciando a continuidade do seu desenvolvimento pessoal, social e político, por meio da ação educativa, de saúde e integração na vida acadêmica.

A UMAP, no período 2015/2016 possui 100 alunos regulamente matriculados, porem em média 70 frequentam regularmente o curso, sendo que 44 responderam os instrumentos dessa pesquisa.

O bem-estar ou a qualidade de vida de cada pessoa estão vinculados às perspectivas de envelhecimento ativo, cujas diferenças individuais dependem do contexto sociodemográfico e econômico em que se está inserido, bem como das características culturais e padrões de comportamento (MEIRA, 2004).

Segundo Braga et al., (2011), mostraram que fatores como idade avançada, sexo feminino, baixo nível de escolaridade estão relacionados a níveis inferiores de qualidade de vida. A população de idosos estudada são, na maioria, do sexo feminino (70,4), com predominância das faixas etárias entre 60 e 70anos (75%). Isso pode acontecer pela existência da mortalidade diferencial de gênero que prevalece há longas datas na população brasileira. O acompanhamento médico mais precoce, atenção à prevenção de doenças, hábitos de vida mais saudáveis são algumas das inúmeras hipóteses que justificam a longevidade das mulheres, levando, por conseguinte, ao processo de “feminização da velhice”. (SILVA, 2008).

Em relação ao estado civil, observou-se a predominância os idosos casados. Em estudos recentes, realizados na região Sul do Brasil, observou-se predominância de

idosos casados, seguidos de viúvos. (SILVA, 2008)

A renda média dos idosos da UMAP é de 1 salário mínimo (80%), Segundo Pereira et al., (2006) os rendimentos estão frequentemente diminuídos entre os idosos, sendo os fatores socioeconômicos importantes na vida diária e na qualidade de vida deste grupo populacional. Ainda segundo estes autores, uma boa situação socioeconômica mostra-se associada a melhor qualidade de vida.

Como é observado na tabela 03, apresenta-se os resultados de tendência central e dispersão dos escores gerais da avaliação da qualidade de vida. nas duas escalas, onde observa-se com relação às duas primeiras perguntas do questionário WHOQOL-BREF que tratam da avaliação pessoal da própria qualidade de vida, a pergunta Q1 **“como você avalia sua qualidade de vida?”** obteve escore médio de 3,77 portanto, sua percepção da qualidade de vida de acordo com o escore médio está inserida no parâmetro de regular ( escore médio entre 3 até 3,9), enquanto que, a pergunta 02 **“Quão satisfeito você está com sua saúde?”** obteve escore médio de 3,41 caindo para a faixa de “ nem satisfeito nem insatisfeito” (escore médio entre 3 até 3,9).

Segundo o estudo realizado, os idosos da UMAP, conforme mostra o gráfico 1 possui seu domínio psicológico da qualidade de vida mais representativo, com média de (62,12), este domínio se destaca dentre os demais com bom nível de satisfação sendo o de maior contribuição significativa, demonstrado a importância das atividades realizadas no contexto da UMAP para o bem estar físico e mental do idoso. As alterações psicológicas e de inserção social pelas quais passam os indivíduos idosos, de forma a minimizar os efeitos dessas transformações decorrentes da idade na qualidade de vida desses sujeitos. (FLECK, 2003).

Em relação à percepção dos idosos sobre sua qualidade de vida nas questões referentes ao Domínio psicológico quanto sua vida tem sentido; com que frequência tem sentimentos negativos como mau humor, desespero, ansiedade, depressão; quanto consegue se concentrar em suas atividades; espiritualidade/religião/crenças pessoais, é mostrado na Tabela 05.

Conforme observado na Tabela 05 do Domínio Psicológico: mostrou que o maior escore obtido nas facetas do Domínio Psicológico foi o “Espiritualidade/religião/crenças pessoais” com 3,70 e “autoestima” com 3,59, foram as mais relevantes. A influência da espiritualidade na saúde física, mental e social, implica num fator de proteção relacionado às emoções e a convicções de natureza não material, com a suposição de que há mais no viver do que pode ser percebido ou plenamente compreendido, remetendo questões como o significado e sentido da vida, que não se limitando a qualquer tipo específico de crença ou prática religiosa (CÁRDENAS, 2004).

A Educação para a Saúde, prestada aos idosos da UMAP, tem especial importância no domínio Psicológico, relacionando com o atendimento das necessidades afetadas no referente domínio em dito programa, favorecendo a autoestima destes e fornecendo-lhes suporte físico, cognitivo, afetivo espiritual.

No gráfico 1, o domínio relações sociais foi o menos representativo com média 57,07%, em relação aos outros domínios, ou seja, que possui o nível mais baixo de satisfação para a QV da população estudada. De acordo com Pereira et al., (2013), a inserção social minimiza os efeitos das transformações decorrentes do envelhecimento na QV. Um bom relacionamento social é um dos principais determinantes da alta satisfação com a QV. Logo podemos concluir que este domínio provavelmente é o que se encontra mais afetado mesmo com a interação social proporcionada pelas atividades da UMAP, e o domínio psicológico é aquele que mais contribui para a manutenção da qualidade de vida dos idosos.

Na tabela 06, a faceta mais representativa é a Q20 referente as relações pessoais com média de 0 a 100 de 72,73%. De acordo com Pereira *et al.* (2005) a inserção social minimiza os efeitos das transformações decorrentes do envelhecimento na QV. Um bom relacionamento social é um dos principais determinantes da alta satisfação com a QV. A faceta Q22 referente a atividade sexual é a que menos tem representatividade não só deste domínio mas de todos os outros. Braga (2011), diz que para muitos a se-

xualidade em idosos surge como algo inadequado, baseado no estereótipo de que eles são desprovidos de desejo e prática sexual. Rotula-se o homem como impotente e a mulher como desprovida de atrativos físicos, as medias encontradas pode estar relacionada com a faixa etária da população estudada que em sua maioria tem de 50 a 60 anos.

Quanto ao domínio meio ambiente, que conforme mostra o gráfico 1, tem média de 58,10%, será necessário promover condições ambientais relevantes à manutenção da funcionalidade do idoso afim de promover e melhorar seu entorno destes idosos, tomando as providências necessárias que amplifiquem o seu bem-estar e satisfação para com sua QV. Pode ser que esse resultado esteja relacionado às precárias oportunidades de lazer na comunidade e às dificuldades encontradas pelos idosos de buscarem oportunidades de entretenimento em outros locais da cidade, inclusive pelo baixo nível de renda desta população. Segundo a OMS, o ambiente físico em que o idoso está inserido pode determinar a dependência ou não do indivíduo socialmente ativo se puder ir andando com segurança à casa de seus vizinhos, ao parque ou tomar o transporte local. Idosos que vivem em ambientes inseguros são menos propensos a saírem sozinhos e, portanto, estão mais susceptíveis ao isolamento e à depressão, bem como a ter mais problemas de mobilidade e pior estado físico, o que vem a influenciar a qualidade de vida.

Pereira (2005), ressalta que os idosos com limitações em seu ambiente físico têm cinco vezes mais chances de sofrer depressão, e que a moradia e o ambiente físico adequados têm influência positiva na qualidade de vida do idoso.

Analisando os resultados dos domínios individualmente, observou-se que no Domínio Físico conforme se verifica na tabela 04 a faceta com maior escore é a Q15 (mobilidade) e a de menor escore é a faceta Q4 (energia e fadiga, juntamente com a faceta Q16). Vários estudos apontam que a capacidade funcional é um importante fator de impacto na qualidade de vida em idosos, resultando em maior influência do domínio físico (BRAGA,2011).

Foi interessante notar que, apesar das diversas dificuldades relatadas pelos entrevistados os escores foram relativamente altos neste domínio e que podem estar influenciadas por fatores como as condições de trabalho; satisfação e salário; relações familiares; disposição; estado de saúde; lazer; prazer; locomoção; estilo de vida; e principalmente, espiritualidade a faceta com maior representatividade com 77,07 %, como mostra o gráfico 02. A capacidade funcional do idoso é dimensionada por meio do desempenho da autonomia e da independência, sendo as intercorrências comuns ocorridas no dia a dia do idoso, alterações próprias do envelhecimento fisiológico, porém a frequência dessas ocorrências pode advir das doenças crônicas presente no idoso, que pode levar a uma limitação na capacidade do idoso em desempenhar as chamadas atividades básicas da vida diária (RUGISKI,2007).

## 7. CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu a compreensão sobre os aspectos sociodemográficos dos idosos alunos da universidade da maturidade da UNIFAP, identificando a predominância de indivíduos do sexo feminino, com idades variando principalmente entre 60-70 anos, e renda com média de 1 salário mínimo. Quanto à qualidade de vida, o instrumento WHOQOL-Bref evidenciou uma avaliação regular da mesma, sendo os que mais possuem maior representatividade na qualidade de vida o domínio psicológico e ambiental, e com menor representatividade o domínio referente as relações sociais, demonstrado a importância das atividades realizadas no contexto da UMAP para o bem estar físico e mental do idoso.

Apesar da população deste estudo ser considerada pequena, encontraram-se resultados semelhantes a outros estudos realizados com a população idosa brasileira.

Observa-se a importância da realização de estudos para verificar a influência dos domínios na QV ao longo do processo de envelhecimento. É necessário também ampliar o foco de atenção aos idosos e desenvolver estratégias de planejamento, implementação e avaliação de programas de promoção de saúde do idoso, garantindo

melhores condições de vida e saúde, de modo a propiciar um envelhecimento saudável e, conseqüentemente, melhor qualidade de vida.

No caso da amostra estudada, indica-se o desenvolvimento e ações que visem a socialização e o envolvimento em atividades sociais e de lazer, como estratégias para melhorar a assistência ao idoso da comunidade em questão. Essa medida, além de criar condições para promover sua autonomia, integração e participação efetiva na sociedade, influencia de modo positivo seu bem-estar psíquico e físico.

## REFERÊNCIAS

- BRAGA, Maria Cecília Portugal et al. QUALIDADE DE VIDA MEDIDA PELO WHOQOL-BREF: ESTUDO COM IDOSOS RESIDENTES EM JUIZ DE FORA/MG. **Revist de Atenção Primária a Saúde**, v. 14, n. 1, 2011.
- CÁRDENAS, A. M. C. Qualidade de vida de mulheres de uma comunidade de baixa renda: **estudo comparativo entre mulheres com trabalho doméstico e trabalho remunerado**. 2004. Tese (Doutorado em Enfermagem) Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004
- FLECK, M. P. A. et al. Aplicação da versão em português do instrumento abreviado de avaliação da qualidade de vida "WHOQOL-bref". **Revista de Saúde Pública**. v. 34, n. 2, p. 178-783, 2000. Disponível em: <<http://www.fsp.usp.br/rsp>>. Acesso em: junho 2016.
- IBGE. **Sobre a condição de saúde dos idosos: indicadores selecionados**. Indicadores Sociodemográficos e de Saúde no Brasil 2013. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/indic\\_sociosaude/2013/com\\_sobre.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/indic_sociosaude/2013/com_sobre.pdf)>.
- MEIRA EC, Souza AS, Souza DM, Santos MOD, Vasconcelos CCS. **Conhecendo e intervindo junto ao idoso participante dos grupos de convivência para a terceira idade**. in: *Anais do 4 Congresso Brasileiro de Extensão Universitária*; Belo Horizonte ; 2004.
- PEREIRA, Renata Junqueira et al. Contribuição dos Domínios físico, social, Psicológico e ambiental Para a Qualidade de vida global de Idosos. **Rev. psiquiatr.Rio D'us. Sul** , Porto Alegre, v. 28, n. 1, p. 27-38, abril de 2006.
- PEREIRA, L. S. M. et al. **Programa Melhoria da Qualidade de Vida dos Idosos Institucionalizados**. Anais do 8º Encontro de Extensão da UFMG, Belo Horizonte 2005. Disponível em: [http://www.ufmg.br/proex/arquivos/8Encontro/Saude\\_41.pdf](http://www.ufmg.br/proex/arquivos/8Encontro/Saude_41.pdf)

RAMOS, L. R. Fatores determinantes do envelhecimento saudável em idosos residentes em centro urbano: Projeto Epidoso, São Paulo. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 3, p.793-798, 2003.

SILVA, Cláudia Beatriz Degani Cardozo de et al. Qualidade de vida de idosos atendidos pelas equipes de saúde da família em Rio Grande, [dissertação]. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Mestrado em Enfermagem; 2008.

SOUSA, L. et al. Qualidade de vida e bem-estar dos idosos: um estudo exploratório na população portuguesa. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo, v. 37, n. 3, p. 364-371, 2003. Disponível em: <<http://www.fsp.usp.br/rsp>>.



# UTILIZAÇÃO DO CD44 COMO MARCADORES DE IDENTIFICAÇÃO DE CÉLULAS TRONCO NO PROCESSO DE CARCINOGENÊSE

Lethicia Barreto Brandão<sup>1</sup>

Ana Rita Pinheiro Barcessat<sup>2</sup>

**RESUMO:** As células tronco (CT) podem chegar a representar o futuro da ciência, pesquisadores à identificam como meio de tratamento para inúmeras patologias, assim como são associadas a formação de determinados cânceres. Nesse contexto, as CT são identificadas através da utilização de biomarcadores presentes no próprio organismo, com a finalidade de identificar as alterações genéticas da carcinogênese pode-se caracterizar as expressões de proteínas por meio de marcação imunoistoquímica e análises de DNA e RNA. O CD44, uma glicoproteína de adesão, pode vir a servir como marcador de CT no processo da carcinogênese. Diante disso, os estudos apontam a identificação do CD44 na fase final da formação do tumor, ajudando-o no processo de metástase e associado a um mal prognóstico do câncer.

## 1 INTRODUÇÃO

Células-tronco (CT) são células indiferenciadas, encontradas em pequenas quantidades em indivíduos com desenvolvimento completo, sua caracterização pode se dar pela presença de alguma propriedades como sua capacidade de diferenciar e auto renovação, podem ser identificadas por testes com biomarcadores, moléculas que expressas em células e associadas a um conjunto de propriedades podem ser caracterizadas como CT.

A hipótese de o câncer ser originado de células-tronco considera que as células de reserva que possuem a capacidade de auto renovação tendem a acumular alterações genéticas ao longo do tempo, evadindo-se dos mecanismos de controle do microambiente e, com isso, dão suporte à evolução tumoral (SHIPITSIN & POLYAK, 2008).

Com a finalidade de identificar as alterações genéticas da carcinogênese pode-se caracterizar as expressões de proteínas por meio de marcação imunoistoquímica e análises de DNA e RNA. Dentre os marcadores utilizados encontra-se o CD44, uma glicoproteína de cadeia simples, sendo expresso em grande quantidade no epitélio,

---

<sup>1</sup> Foi bolsista de iniciação científica PROBIC/UNIFAP, vigência 2013-2014.

<sup>2</sup> Orientadora de iniciação científica. Professora do Curso de Enfermagem da UNIFAP.

está associado como um marcador importante na identificação de células troncos.

A proteína CD44 está envolvida no contato célula-célula e nas interações célula-matriz, sendo que seu principal papel é de suas isoformas é a manutenção da adesão celular (RUDZKI, JOTHY,1997). Está implicado numa série de processos fisiológicos e patológicos incluindo a embriogênese, a adesão de linfócitos circulantes ao endotélio vascular, a adesão de células às proteínas da matriz extracelular, a hematopoiese, a inflamação e o câncer. (SALMI et al, 1993; MY-P et al, 1998).

O CD44 é utilizado como marcador de célula tronco no processo de carcinogênese, e acredita-se ser de grande importância para compreensão da teoria de monoclonalidade e identificação do papel das células-tronco nesse contexto.

## **2 METODOLOGIA**

As informações foram reunidas, organizadas, criticamente avaliadas e quantitativamente mensuradas, a metodologia será adaptada do conceito e dos passos da metanálise de estudos clínicos, verificando-se ainda a possibilidade de adaptação do método para pergunta não clínica. Assim será realizada através de uma revisão sistemática seguida ou não de metanálise obedecendo-se a lógica dos nove passos agrupados em três estágios de acordo com o CRD Report [44] uma publicação do NHS Centre for Reviews and Dissemination.

### **Estágio I - Planejamento**

Passo 1 - identificação da necessidade da revisão

A pergunta formulada que baseou a análise da necessidade da presente revisão foi:

Identificar a utilização do CD44 como marcador de célula tronco nas etapas diversas da carcinogênese em modelos experimentais.

Passo 2 - preparação e desenvolvimento do presente projeto de revisão sistemática

### **Estágio II - Execução**

Passo 3 - identificação da literatura

Passo 4 - seleção dos estudos

Para identificar os estudos relevantes será realizada pesquisa nas bases de dados eletrônicas (como Medline, Embase, Lilacs, Cochrane Controlled Trials Database, SciSearch etc.), verificadas as referências bibliográficas dos estudos relevantes, solicitados estudos de especialistas e serão pesquisadas manualmente revistas e anais de congressos. Cada uma das fontes utilizadas será identificada em relação ao método que se utilizou para encontrá-la

Passo 5 - avaliação crítica da qualidade dos estudos

Para determinar a validade dos estudos selecionados e qual a probabilidade de suas conclusões estarem baseadas em dados viciados foram estabelecidos alguns critérios descritos na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1- Critérios de inclusão de estudos

Descritores	Critérios
Participantes	Animais e humanos.
Intervenção	Teste do biomarcador CD44 na carcinogênese (de qualquer natureza) para a caracterização de células tronco serão considerados.
Desfecho	Útil ou não
Tipo de estudo	Somente estudos envolvendo testes de marcadores biológicos.

Com a avaliação crítica identificar-se-ão os estudos válidos para inclusão na revisão, bem como aqueles que não preenchem os critérios de validade.

Passo 6 - extração dos dados e monitorização do progresso

As variáveis de cada estudo, as características da metodologia e dos participantes e os desfechos clínicos (utilidade ou não como marcador de células tronco) serão registrados e resumidos. A avaliação desses parâmetros é que permitirá a comparação ou não dos estudos selecionados. Eventualmente poderá ser necessário entrar em contato com os autores dos estudos para solicitar informações mais detalhadas omitidas na publicação.

Passo 7 - Síntese dos dados

O agrupamento dos estudos selecionados será baseado na semelhança entre eles. Os agrupamentos foram pré-estabelecidos e descritos abaixo:

Estudos relacionando células tronco e carcinogênese

**Grupo 1-** estudos em animais x marcador CD44

**Grupo 2-** estudos em humanos x marcador CD44

### Estágio III - Apresentação e divulgação

Passo 8 - relatório e recomendações

Passo 9 - transferência das evidências para a prática clínica (conforme a necessidade)

## 3 RESULTADOS

Dentre os resultados encontrados, destacamos a segunda tabela, onde contém os nomes dos estudos utilizados para formulação dessa revisão, os autores e suas respectivas instituições, a fase da carcinogênese na qual se utilizou o marcador biológico CD44 para identificação da CTs e o motivo pelo qual levou-se a utilizar esse marcador.

Tabela 2- Tipos de estudo

TIPO DE ESTUDO	AUTOR/ANO	O PORQUE UTILIZOU ESSE MARCADOR	FASE DA CARCINOGENESE
HUMANOS	BERNARDI, M. A. <b>Expressão de CD44 e CD24 em carcinomas mamários ductais invasivos de acordo com a análise dos subtipos moleculares e sua relação com fatores prognósticos.</b> Universidade Federal de São Paulo, Faculdade de Medicina. Dissertação. 2011	Utilizou-se esse marcador devido a sua identificação e caracterização para células tronco, dentro do carcinoma mamário humano	Instalado (tumor)
CACHORROS COM NEOPLASIAS MAMARIAS	MAGALHÃES, G. M. et al. <b>Imunomarcção de células-tronco tumorais em células metastáticas de neoplasias mamarias caninas.</b>	Utilizou o marcador CD44, como marcador de superfície para células tronco, em combinação com CD44+/CD24-	Instalado (tumor)
CADELAS COM CARCINOMA	FIGUEIROA, f. C. <b>Expressão de marcadores de células-tronco em</b>	Ocorreu a utilização desse marcador para	Instalado (tumor)

ESPONTÂNEO DE MAMA	<b>Carcinoma espontaneo de mama em cadelas e sua correlação com o grau de agressividade nos diferentes subtipos de tumores</b> Botucatu - São Paulo, 2012	identificar celular tronco tumorais.	
HUMANOS COM CÂNCER DE MAMA	VALEJO, F. A. M. <b>Transição epitelio-mesenquimal e presença de células cd44/cd24 como fatores de predição de metástase axilar no cancer de mama inicial.</b> Universidade de São Paulo, Faculdade de medicina de Ribeirão Preto, 2010.	_____	Instalado (tumor)
HUMANOS	MOURA, C. M; <b>Análise da expressão da molécula CD44 e suas isoformas no câncer de próstata.</b> Universidade de medicina de São Paulo, 2012.	_____	Instalado (tumor)
CADELAS COM CANCER DE MAMA	MAGALHÃES, G. M. et al; <b>Avaliação da imunomarcção de células-tronco tumorais em carcinossarcomas mamários e carcinomas em tumores mistos em cadelas.</b> Pesquisa Veterinaria		

## 4 DISCUSSÃO

Observa-se um predomínio na utilização do marcador CD44 na identificação de célula tronco no câncer de mama, principalmente na análise das proteínas transmembrânicas CD44 e CD24, onde as mesmas apresentam outras isoformas, e são associadas a tumores com comportamento mais agressivo e se correlacionam a um pior prognóstico em vários tumores humanos, incluindo câncer de mama.

Uma subpopulação de células tumorais que expressam fortemente o CD44 mas não o CD24 (fenótipo CD44+/CD24-) foi identificada como células-tronco tumorais por Al-Hajj et al. (2003) e posteriormente confirmada por outros autores. Entretanto, não se tem conhecimento do porque essa combinação de fenótipo está associada a células tronco consideradas mais tumorigenic, pois o CD44 é considerado uma glicoproteína que regula a adesão célula- célula e interação célula- matriz e o CD24 está envolvido na regulação da proliferação celular e na interação célula-célula, contudo não se entende essa associação de fenótipo com a característica de tumorigenicidade abordada na literatura, e pelo conhecimentos das glicoproteínas não destaca-se nenhuma característica que justifique essa afirmação.

Outra questão é a ligação entre o CD44 e o ácido hialurônico (AH) está envolvi-

da com a morfogênese, a inflamação e a invasão tumoral. Abbas *et al.* (2000) relataram que o papel da molécula de adesão CD44 na resposta inflamatória está relacionado com a migração e a indução de memória em células T. Os linfócitos T, os quais especificamente reconhecem antígenos, recebem sinais desses receptores antigênicos, com aumento da afinidade das integrinas por seus ligantes. Duas dessas integrinas, VLA-4 e VLA-5, ligam-se à fibronectina na matriz extracelular e a terceira, que é a molécula de adesão (CD44), liga-se ao AH. O CD44 tem sido envolvido na produção de citocinas, tais como a interleucina 8 e o fator de crescimento de fibroblastos.

O CD44 possui uma característica que permite ligar-se ao ácido hialurônico, onde pode ser encontrado em três estágios de acordo com essa ligação: o primeiro onde o CD44 é inativo (não ocorre ligação com o AH); O segundo o CD44 não se liga ao AH, mas por estímulos fisiológicos pode acabar se ativando permitindo a ligação; E o terceiro onde o CD44 ativo ligar-se ao AH (Lesley *et al.*, 2003).

Essa interação ativa vários receptores tirosina quinase presente no câncer, O CD44 pode possuir sulfato de heparan realizando ligações de fatores de crescimento, de fibroblastos, do endotélio vascular e hepatócitos, facilitando a invasão celular através das alterações das vias PI3K/ AKT (Misra *et al.*, 2011).

A detecção precoce de metástase está diretamente ligada ao fator prognóstico. Harrell *et al.* (2006) mostram que o CD44 é expresso em tumores primários e superexpresso em êmbolos tumorais linfáticos e metástases, concluindo que as subpopulações de CD44 no sítio primário são preferencialmente atraídas para os vasos linfáticos tumorais e seus linfonodos. Nesse contexto, o estudo do comportamento das micrometástases, em linfonodos drenantes do tumor mamário por meio do CD44, pode ser uma ferramenta útil no prognóstico e no direcionamento do tratamento. A compreensão dos mecanismos moleculares da formação de metástases poderá fornecer dados para o aperfeiçoamento no tratamento do tumor.

Nota-se pelos estudos utilizados que o CD44 é utilizado como marcador de célula-tronco quando a massa tumoral já está formada, é sua alta prevalência se associa

a um pior prognóstico para o paciente como câncer.

## 5 CONCLUSÃO

O CD44 pode ser utilizado como marcador para célula tronco no processo da carcinogênese, observando uma maior predominância com o tumor já formado, na etapa final da carcinogênese. Sua relação anatomocronológica está associada as suas características ao ligar-se ao ácido hialurônico, permitindo que o CD44 adquira características que o possibilita a se tornar uma proteína importante para aumentar a probabilidade de metástase do câncer.

Observa-se também sua associação com outro fenótipo CD24, que permite que sua isoforma se torne mais agressiva e represente um pior prognóstico ao quadro clínico.

Diante disso, se faz necessário estudos que aprofundem a função e importância do CD44 no processo da carcinogênese, em sua proliferação, tumorigenicidade e sobrevivência, podendo representar num futuro um melhor entendimento do processo da carcinogênese.

## REFERÊNCIAS

- BERNARDI, M. A. Expressão de CD44 e CD24 em carcinomas mamários ductais invasivos de acordo com a análise dos subtipos moleculares e sua relação com fatores prognósticos. Universidade Federal de São Paulo, Faculdade de Medicina. Dissertação. 2011.
- FREITAS, D. P. Células-tronco mesenquimais derivadas da polpa de dente humano: caracterização e estudos funcionais em modelo experimental de epilepsia. Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz. Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, 2011.
- FIGUEIROA, f. C. Expressão de marcadores de células-tronco em Carcinoma espontâneo de mama em cadelas e sua correlação com o grau de agressividade nos diferentes subtipos de tumores. Botucatu – São Paulo, 2012.
- MAGALHÃES, G. M. et al. Imunomarcagem de células-tronco tumorais em células metastáticas de neoplasias mamarias caninas. Abril, 2013.

- MAGALHÃES, G. M. et al; Avaliação da imunomarcção de células-tronco tumorais em carcinossarcomas mamários e carcinomas em tumores mistos em cadelas. Pesquisa Veterinária. Maio, 2014.
- MENEZES, C. M. G. G. Obtenção e caracterização fenotípica e morfológica de células-tronco mesenquimais de nervo periférico de camundongos. Universidade Estadual de Feira de Santana. Tese de pós-graduação, 2009.
- MOURA, C. M; Análise da expressão da molécula CD44 e suas isoformas no câncer de próstata. Universidade de medicina de São Paulo, 2012.
- RIVAS, M. P. Avaliação de marcadores da senescência celular replicativa em células tronco mesenquimais humanas. Universidade federal da Bahia, Curso de ciências biológicas. TCC,2013.
- VALEJO, F. A. M. Transição epitelio-mesenquimal e presença de células cd44/cd24 como fatores de predição de metástase axilar no cancer de mama inicial. Universidade de São Paulo, Faculdade de medicina de Ribeirão Preto, 2010.



CIÊNCIAS DA SAÚDE:  
RESULTADOS DOS  
PROJETOS DE  
INICIAÇÃO  
CIENTÍFICA DA  
UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO AMAPÁ  
(2012-2016)



ISBN 978-856235964-4



9

788562

359644